

N^o D'ORDRE

77

THESES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ
DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

T. KOFMAN

Docteur en Médecine

Préparateur à la Faculté de Médecine

1^{re} Thèse : Recherches sur le signe électrique des microbes.

(Transport électrique, action bactéricide des rayons X, électrophorèse des sérums).

2^e Thèse : Propositions données par la Faculté.

Soutenues en Juin 1927 devant la Commission d'examen

MM. CARDOT
BEAUVERIE
ROMAN
CLUZET

Président.

Examineurs.

LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

—
1927

RECHERCHES SUR LE SIGNE ÉLECTRIQUE
DES MICROBES

Transport électrique, action bactéricide des rayons X,
électrophorèse des sérums

N° D'ORDRE
77

THESES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ
DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

T. KOFMAN

Docteur en Médecine

Préparateur à la Faculté de Médecine

1^{re} Thèse : Recherches sur le signe électrique des microbes.

(Transport électrique, action bactéricide des rayons X, électrophorèse des sérums).

2^e Thèse : Propositions données par la Faculté.

Soutenues en Juin 1927 devant la Commission d'examen

MM. CARDOT
BEAUVÉRIE
ROMAN
CLUZET

Président.

Examineurs.

LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

1927

UNIVERSITÉ DE LYON - FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. DEPÉRET, * O., * I., * X, Membre de l'Institut.

Assesseur

M. KÖHLER, * O., * I., * X, Correspondant de l'Institut.

Professeurs honoraires

MM. VESSIOT, * O., * I. — R. DUBOIS, *, * I., * X.

GÉRARD, * O., * I., * C. — RIGOLLOT, *, * I. — VAUTIER, * I.

LE VASSEUR, *, * I.,

Professeurs titulaires

MM. DEPÉRET, * O., * I., * X, Membre de l'Institut, *Géologie*.

KÖHLER, * O., * I., * X, Correspondant de l'Institut, *Zoologie*.

OFFRET, *, * I., * X, *Minéralogie théorique et appliquée*.

X., *Mathématique générale*.

DULAC, *, * I., *Calcul différentiel et intégral*.

MASCART, *, * I., * X, *Astronomie physique*.

GRIGNARD, * O., * I., * X, P. N., Membre de l'Institut, *Chimie générale*.

SIRE, * A., *Mécanique rationnelle et appliquée*.

CARDOT, *Physiologie générale et comparée*.

MEUNIER, *, * I., *Chimie industrielle*.

COUTURIER, * I., * X, *Chimie agricole*.

BEAUVIERIE, *, * I., * C, *Botanique*.

THOVERT, *, * I., * X, *Physique*.

VANEY, *, * I., *Zoologie*.



Professeurs titulaires (sans chaire)

MM. LOCQUIN, *, * I., *Chimie générale*.

JOB, * I., *Chimie physique*,

Maîtres de conférences et Chargés de cours complémentaires

MM. H. DOVIN, *Botanique*.

DÉJARDIN, *Physique*.

LEMARCHANDS, O., I., *Chimie industrielle*.

RICHE, * I., *Géologie*.

BONNET, * I., *Zoologie appliquée et Zootechnie*.

ROMAN (F.), * I., *Géologie agricole*.

MAYET, *, * I., *Anthropologie*.

PELOSSE, * A., *Sériciculture*.

CLÉMENT, * I., * X, *Physiologie*.

DONCIEUX, * I., P. C. N. supérieur.

SEYEWETZ, *, * I., *Matières colorantes artificielles*

Secrétaire

M^{me} NÉTIEN * A.,

A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CLUZET

*Professeur de Physique biologique, Radiologie
et Physiothérapie à la Faculté de Médecine
Chevalier de la Légion d'honneur*

Hommage affectueusement reconnaissant.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR CARDOT
Professeur de Physiologie générale et comparée

Hommage bien reconnaissant.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BEAUVÉRIE
*Professeur à la Faculté des Sciences
Chevalier de la Légion d'honneur*

Hommage respectueux.

A MONSIEUR ROMAN
Maître de Conférences à la Faculté des Sciences

Hommage respectueux.

A MONSIEUR LE DOCTEUR ROCHAIX

*Professeur agrégé à la Faculté de Médecine
Chevalier de la Légion d'honneur*

Hommage bien reconnaissant.

MEIS ET AMICIS

RECHERCHES SUR LE SIGNE ELECTRIQUE DES MICROBES

Transport électrique, action bactéricide des rayons X,
électrophorèse des sérums

Introduction

Ce travail, entrepris sous la direction du Professeur Cluzet au Laboratoire de Physique Médicale de la Faculté de Médecine de Lyon, comprend l'ensemble de nos recherches sur les propriétés physico-chimiques des bactéries et du sérum en relation avec la charge électrique des microbes.

Nous avons divisé notre exposé en trois parties.

La première partie (Chapitre I) comprend, après quelques généralités sur le galvanotropisme, l'étude du signe électrique des bactéries où nous examinons successivement la technique et ses diverses difficultés, l'origine et l'évaluation de la charge, les variations du sens de transport avec la nature et la composition du milieu de culture.

La deuxième partie et la troisième constituent un essai d'application de l'électrotropisme des microbes à la solution d'un certain nombre de problèmes biolo-

giques se rapportant à la stabilité des suspensions microbiennes et des sérums.

Deux groupes de recherches nous ont surtout attiré. D'une part, l'action bactéricide des rayons X peut-elle être obtenue par une utilisation convenable du galvanotropisme ? A cette occasion, nous avons été amené à étudier les conditions dans lesquelles les radiations émises par une ampoule de Crookes deviennent microbicides (Chapitres II, III, IV.)

D'autre part, existe-t-il une relation entre le signe électrique des microbes et les diverses propriétés biologiques qu'acquiert le sérum des animaux à qui ces bactéries sont injectées ?

Nous avons été conduit (Chapitre V) à exposer nos recherches comparatives sur quelques constantes physico-chimiques du sérum et notamment sur les variations de la concentration en ions hydrogène au cours de processus complexes tels que choc anaphylactique, irradiation, immunisation.

Enfin (Chapitre VI), nous avons tenté de déceler dans le mécanisme si obscur de l'immunité quelques propriétés physico-chimiques, en examinant les variations du pouvoir agglutinant d'un sérum sous l'influence d'un champ électrique et de ses rapports avec le galvanotropisme microbien.

La partie bactériologique de ce travail est due à la collaboration de notre Maître et ami, le Professeur Agrégé Rochaix, à qui nous sommes heureux d'exprimer toute notre affectueuse reconnaissance.

PREMIÈRE PARTIE

Généralités Galvanotropisme actif et passif

Le courant électrique étant un des excitants les plus actifs de l'organisme, il n'est pas étonnant qu'il puisse influencer aussi le mouvement de la plupart des êtres animés. Ainsi, si dans une cuve remplie d'eau, on fait passer un courant électrique et qu'on y introduise de petits animaux aquatiques, on constate pour un grand nombre d'entre eux une relation entre leur mouvement et le sens du courant. On dit que ces animaux présentent un tactisme spécial au courant électrique, ce phénomène étant appelé galvanotropisme.

Purkinje nota, semble-t-il, le premier ce tropisme en observant que le passage du courant électrique à travers la tête de l'homme détermine son inclinai-

son dans un sens bien déterminé. Brenner reconnaît l'effet polaire de cette action et montre qu'à la fermeture du courant, la tête s'incline vers l'anode et à l'ouverture vers la cathode. Mach vérifia ces données sur des animaux et vit, en opérant sur la tête des poissons, que celle-ci tend à se pencher vers l'anode quand elle est traversée par un courant électrique.

Hermann (1885) entreprit des recherches non plus sur un segment de corps, mais sur un organisme complet. Il vit que des larves de grenouilles et des embryons de poissons se placent dans un champ électrique, de telle façon que la tête soit dans la direction de l'anode et la queue vers la cathode.

Verworn découvre des phénomènes analogues sur des organismes monocellulaires et notamment chez les rhizopodes, les infusoires ciliés et flagellés. En étudiant spécialement le galvanotropisme des paramécies, cet auteur montre qu'à la fermeture du courant elles dirigent leur pôle antérieur vers la cathode; en renversant le sens du courant, le phénomène est aussitôt inversé. Verworn trouve aussi que certains infusoires présentent une galvanotaxie cathodique et que par contre, quelques flagellés ont une galvanotaxie anodique. Il remarqua, en outre, qu'on peut arriver, grâce au courant électrique, à sélectionner les infusoires à galvanotaxie cathodique et anodique quand ces deux espèces sont contenues dans un même vase, chacune d'elles se rassemblant au pôle correspondant du champ électrique.

Ces différents phénomènes furent confirmés par les

recherches de Ludloff, Puther, Pearl, Carlgren, Wallengren, Birukoff, Bancroft. Ce dernier auteur montre que le courant électrique aurait une action élective sur les cils qui enveloppent les paramécies, leur direction imprimant le mouvement à ces protozoaires. Statkevitch vérifia aussi que la direction du mouvement des cils des paramécies se modifie selon qu'ils sont situés dans la partie du corps tournée vers l'anode ou la cathode.

D'autres protozoaires, comme les amibes, manifestent également une direction spéciale quand ils sont soumis à un champ électrique. Mendelsohn a montré que l'*Abœma proteus* émet à la fermeture du courant électrique des pseudopodes vers la cathode, tout le corps de l'amibe prenant une forme allongée.

Le galvanotropisme a été observé aussi sur des animaux mieux organisés. Hermann, Blasius, Schweizer, Lœb, en observant des petits crustacés placés dans un champ électrique, virent qu'ils se dirigent vers l'anode. On peut admettre avec ces auteurs que sous l'influence du courant électrique, le système nerveux central serait en anelectrotonus, ce qui conditionnerait le sens du déplacement. Le courant descendant paralyserait les fonctions cérébrales et supprimerait les réflexes, le courant ascendant augmentant l'excitabilité du cerveau exagérerait les réflexes. Ce serait donc par une action sélective du courant électrique sur le système nerveux, en provoquant par exemple, une différence d'excitabilité entre les muscles gonistes et antagonistes, que serait déterminé le sens du mouvement de l'animal.

Pour Lœb, le galvanotropisme aurait pour origine une action ionique sur les cellules. Sous l'influence du passage du courant, la répartition des ions serait modifiée et il en résulterait que les phénomènes de transport électrique sont analogues à ceux de l'électrotonus. On sait, par exemple, que tous les sels comme les oxalates, les citrates, les phosphates, qui diminuent la concentration des ions Ca dans les nerfs, augmentent leur excitabilité et agissent comme catalectrotonus. Lœb admet alors, par analogie, qu'au cours du passage du courant dans la zone de catalectrotonus, la concentration des ions Ca et Mg est diminuée et qu'elle est au contraire augmentée à l'anode.

Bancroft vérifia cette hypothèse en modifiant artificiellement la concentration des ions Ca contenus dans les cellules. Cet auteur montra que les sels à base sodium des acides oxalique, carbonique, phosphorique, sulfurique, agissent sur les paramécies en modifiant le sens de leurs mouvements et en les dirigeant à la cathode au lieu de l'anode. On voit ainsi, toute l'importance des variations de la concentration des ions pour l'apparition des phénomènes de galvanotropisme.

Les phénomènes produits par le courant électrique sur les êtres mono ou pluricellulaires sont donc bien démontrés et peuvent être mis sur le compte d'une action directe sur le système nerveux, musculaire ou ciliaire de ces organismes. Nous assistons là à un *galvanotactisme vraiment actif*.

Mais, à côté de ce phénomène où l'origine peut

être attribuée à une variation d'excitabilité des différentes parties du corps de l'animal, il existe d'autres phénomènes, où il est difficile d'admettre une réaction particulière due à l'excitation d'un segment de l'organisme. Ces modalités attractives des pôles électriques, se rapprochent de celles que l'on observe, quand on soumet des suspensions matérielles à l'effet d'un champ électrique. Examinons par exemple à l'ultra-microscope, de l'eau contenant en suspension du verre très finement pulvérisé; si nous faisons passer un courant électrique, on assiste à un déplacement de ces particules vers l'anode. Cette mobilité, qui peut du reste varier avec la composition de l'eau, ne peut être mise sur le compte que des conditions physico-chimiques existant entre les particules et le milieu ambiant. Nous assistons là simplement à un transport électrique des particules conditionnées par les règles d'osmose électrique, bien établies surtout par J. Perrin.

Il en est ainsi, en particulier, pour les éléments comme les leucocytes et les hématies qui se trouvent dans le sang. Mendelsohn a trouvé que les hématies se transportent vers l'anode, quand l'expérience est faite avec du sang fraîchement extrait; par contre, les leucocytes seraient attirés vers le pôle négatif. Il en est de même, pour les bactéries qui sont entraînées dans un champ électrique, tout comme des suspensions colloïdales, sans qu'on puisse noter une modification quelconque dans leurs mouvements propres. Le galvanotactisme des microbes n'est que le signe révélateur d'une charge électrique portée par

ces corpuscules. Dans ces cas, on ne se trouve en présence que d'un *phénomène passif d'entraînement*, bien différent, de l'action directe exercée par le courant continu sur la mobilité même des organismes, comme les paramécies. Il est possible que, même pour les mouvements actifs des protozoaires, le sens du déplacement des cils pourrait avoir son origine dans la charge électrique des éléments protoplasmiques constituant les cils eux-mêmes. Toutes les formes de galvanotactisme ne seraient, en définitive, que les modalités d'un même processus physico-chimique conditionné par les règles de l'osmose électrique. Les frontières entre le galvanotactisme actif et passif tendraient donc à disparaître.

CHAPITRE PREMIER

Transport Electrique des Bacteries

HISTORIQUE

Les recherches fondamentales de Hardy, montrant que les particules, en suspension dans un liquide, possèdent une charge électrique et peuvent être attirées par un pôle, quand elles sont soumises à un champ électrique, il semblait naturel d'en faire l'essai sur les bactéries.

Lortet avait déjà noté que les microbes réagissent par une orientation immédiate dans le sens du courant électrique. Ces recherches furent reprises par Bechold en Allemagne, M^{lle} Cernovodeanu et Victor Henri, Cotton et Mouton, puis Commandon, en France. Depuis, quelques travaux plus complets ont été entrepris en Angleterre par Abbott, Thornton, Russ, en Allemagne par Szent-Györgyi, et en Amérique par toute une phalange de chercheurs : Northorp, Eggerth, Winslow, dont les résultats sont rassemblés dans le *Journal of General Physiology* de Lœb. Nous

avons également entrepris, depuis 1922, dans le laboratoire du Professeur Cluzet, une étude systématique du transport électrique des microbes.

I. — *Technique*

Le transport électrique des microbes peut être réalisé soit dans une petite cellule examinée au microscope, soit dans un tube spécial en forme de U, l'observation étant faite macroscopiquement. Nous décrirons surtout la méthode microscopique, celle qui est la plus courante et que nous avons utilisée dans nos propres déterminations.

Il pourrait sembler que pour observer la cataphorèse, il suffit d'examiner entre lame et lamelle une goutte de la suspension microbienne, deux électrodes en platine très mince étant contenues dans l'interstice. Cependant, si ce dispositif a le mérite d'être simple, il est la cause d'erreurs importantes. Une bonne observation microscopique nécessite en effet, la mise en œuvre d'un certain nombre de conditions primordiales, notamment la suppression des phénomènes d'électrolyse pendant le passage du courant. Aussi, existe-t-il des procédés un peu plus compliqués pour la pratique d'une expérience correcte.

Cotton et Mouton appliquent aux bactéries le dispositif qui leur a servi pour la cataphorèse des colloïdes. Deux bandes de platine de 10 mm. et épaisses de quelques microns, sont séparées par une distance de 15 mm. et fixées sur une lame. Entre les deux

bandes de platine, on introduit une goutte de la suspension à examiner et on recouvre le tout avec une lamelle.

Commandon remplace les électrodes en platine par deux petites bandelettes d'or pur déposées par la pulvérisation cathodique dans le vide. Cet auteur recommande encore un autre procédé très simple que nous avons parfois utilisé avec certaines modifications. On met sur une lame une goutte de la suspension microbienne; sur les bords droit et gauche de la préparation, on place des petits morceaux de papier buvard, d'environ un centimètre, imbibés de la solution à examiner. On recouvre ces papiers avec une feuille d'étain de même dimension et on constitue ainsi, des électrodes qui servent à amener le courant quand on place la préparation sur la platine de l'ultra-microscope.

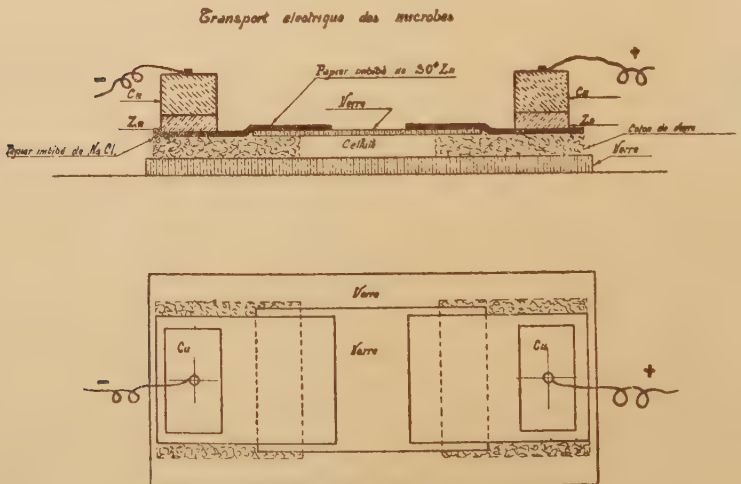
Tous ces procédés, sans doute très simples, sont passibles cependant de divers reproches, notamment celui d'utiliser, pour le passage du courant, d'électrodes non impolarisables et de réaliser un dispositif ne permettant l'examen de cataphorèse qu'en couche mince.

Michaëlis propose une autre technique plus précise. On colle sur une lame de verre, avec du baume de Canada ou de la paraffine, deux petits rectangles taillés dans des lamelles d'une certaine épaisseur. L'appareil est séché plusieurs jours. On verse alors dans la cellule la suspension que l'on veut examiner et l'on recouvre la partie moyenne de la cellule avec une lamelle. Dans le liquide, qui baigne à droite et à

gauche de la cellule, on plonge deux électrodes. Celles-ci sont constituées par un tube de verre courbé, finement étiré à l'une de ses extrémités et contenant de l'agar à 3 % dans 10 % de NaCl ou de KCl. L'extrémité opposée du tube plonge dans une solution concentrée ou même saturée des mêmes sels. Enfin, cette solution saline est réunie, par un tube en U rempli également d'agar chloruré, à une solution de $\text{SO}^4 \text{Cu}$ à 10 %, où plongent des fils de Cu, reliés aux deux pôles d'une source de courant continu à 110 volts.

Ce dispositif a l'inconvénient d'être assez compliqué et, d'autre part, le calcul de la valeur du champ électrique est rendu difficile par la présence de conducteurs en agar dont la résistance n'est pas négligeable.

Notre procédé dérive des précédents :

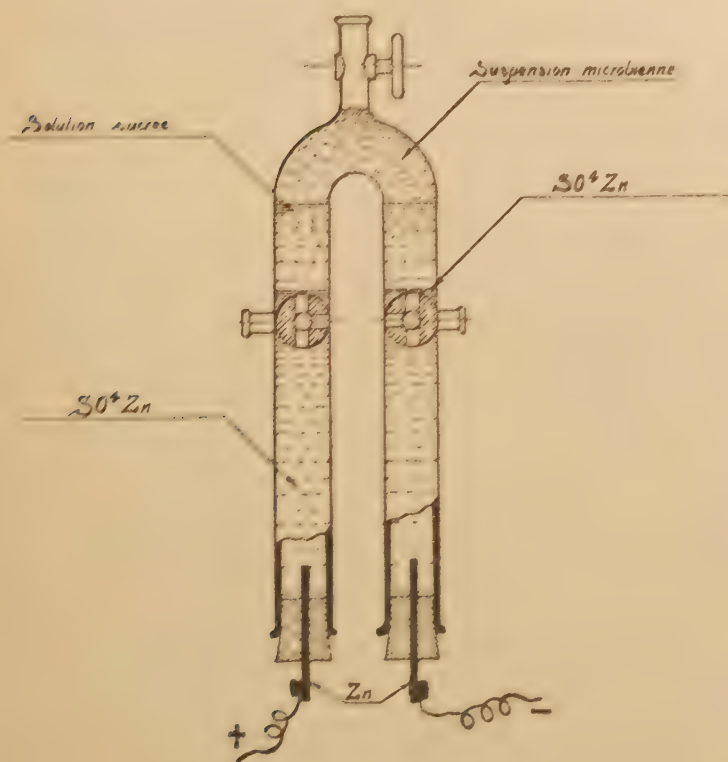


Une goutte de la solution microbienne est déposée sur une lame. De part et d'autre de cette lame, nous

disposons une touffe de coton de verre imbibée également de la solution à étudier. Nous recouvrons la préparation avec une lamelle. Il existe ainsi, grâce à l'interposition de ces filaments de verre entre la lame et la lamelle, une couche assez épaisse de liquide, de l'ordre de 1 à 2 millimètres. On s'arrange pour que le coton de verre dépasse assez largement les bords de la lamelle et puisse ainsi servir d'électrode.

Transport électrique des microbes

Système Northrop.



On recouvre les filaments de verre par un petit carré de papier filtre imbibé de NaCl à 8/1000^e et ce dernier est recouvert, à son tour, d'un autre papier buvard, saturé d'une solution de $\text{SO}^4 \text{Zn}$. Enfin, un bloc de cuivre, portant à l'une de ses faces un disque de zinc, appuie sur tout l'ensemble. Nous avons réalisé ainsi, une cuve assez profonde où le passage du courant se fait à l'aide d'électrodes impolarisables.

Les procédés d'observation macroscopique ont été préconisés par Berchtold, Michaëlis, Northrop. Ce dernier auteur se sert d'un tube en U renversé. Chacune des deux branches, plongeant dans une solution saturée de $\text{SO}^4 \text{Zn}$ servant d'électrode impolarisable, est séparée de la suspension bactérienne par des robinets qu'on n'ouvre qu'au moment de l'expérience. La partie inférieure des deux branches est remplie jusqu'aux deux tiers de leur hauteur d'une solution sucrée de 34 grammes par litre; c'est la partie toute supérieure qui est occupée par la solution bactérienne. La solution de sucre intermédiaire présente l'avantage de n'utiliser qu'une petite quantité de suspension bactérienne et rend plus facile l'observation du transport des microbes.

11. — *Conditions générales d'une observation correcte de cataphorèse*

Comme Colton et Mouton l'ont montré, le sens du transport électrique ne peut être décelé d'une façon certaine que si on opère sur une préparation d'une

certaine épaisseur. L'observation de cataphorèse est rendue, en effet difficile, par le mouvement propre de l'eau. Si on se contente de noter le sens du mouvement dans une goutte d'une suspension, étalée entre lame et lamelle, on peut être induit en erreur, par suite de phénomènes particuliers qui prennent naissance au contact du liquide et de la paroi solide de verre. Quand un champ électrique est créé dans une cellule microscopique, les particules en suspension sont animées d'un mouvement qui est dû à la cataphorèse, mais on observe, en outre, un autre mouvement, dû à l'entraînement des couches liquides supérieure et inférieure qui sont immédiatement en contact avec la paroi en verre. Par contre, la couche moyenne de liquide se déplace en sens inverse des couches superficielles. De telle sorte que, si nous divisons par la pensée le liquide contenu dans la cellule, en une infinité de feuillets horizontaux et parallèles très minces, ceux qui sont à la région extrême supérieure ou inférieure se déplaceront, sous l'influence du champ électrique à la cathode, tandis que la couche qui se trouve exactement dans la partie moyenne se dirigera vers l'anode. Il existe donc, entre les feuillets extrêmes et moyens, un glissement en sens inverse. On conçoit, par suite, qu'à une certaine profondeur, on puisse se trouver en présence d'une couche intermédiaire, où la vitesse soit sensiblement nulle. Quoi qu'il en soit, on voit que la cataphorèse des bactéries peut être troublée, par le mouvement propre de l'eau et que, par conséquent, pour avoir une bonne observation, il faut tenter de la faire porter

sur la région où le mouvement de l'eau est négligeable.

D'après Smoluchowski, la vitesse de l'eau est nulle dans deux couches, situées de part et d'autre du plan médian et dont la distance, par rapport à la paroi supérieure, est donnée par la formule : $d\left(\frac{1}{2} \pm \sqrt{\frac{1}{12}}\right)$ où d représente la hauteur totale de la couche liquide.

En pratique, on se contente de mettre au point sur la couche moyenne, comme le recommandent Cotton et Mouton. Il est nécessaire pour cela d'utiliser une cellule assez épaisse, où il est aisé d'observer les trois couches : supérieure, moyenne et inférieure; les deux extrêmes allant en sens inverse.

Notre procédé, consistant dans l'interposition de filaments de coton de verre entre lames et lamelles, réalise une cellule d'épaisseur convenable.

Outre ces difficultés, inhérentes à tout examen de cataphorèse fait à l'aide du microscope, il faut éviter un certain nombre de causes d'erreur, provenant surtout de la prolongation du passage du courant dans le même sens. Très souvent, on constate des phénomènes de polarisation et un dégagement gazeux aux électrodes non impolarisables et on provoque ainsi, par un échauffement progressif du milieu, l'évaporation du liquide, d'où résulte une diminution dans l'épaisseur de sa couche.

Notons que Commandon avait observé, qu'au cours de la cataphorèse, un certain nombre de particules réagissent au courant d'une façon spéciale; quelques microbes se précipitent contre les parois de

verre, d'autres se mettent à tourner. Nous n'avons constaté que rarement ces phénomènes.

III. — *Résultats*

Neisser et Friedmann croyaient que tous les microbes vont vers l'anode. Les premières recherches de Bechold, puis de M^{lle} Cernovodeanu et Victor Henri, ont été les suivantes : le bacille typhique, le B. Anthrax, le Coli, Koch, Staphylocoque étaient anodiques; le B. Dysentérique Flexner était cathodique.

Commandon trouve que les globules rouges, certains coli, vont vers l'anode; le typhique et certains cocci vont vers la cathode. Cet auteur trouve aussi que le spirochete des oiseaux et le spirochete des fièvres récurrentes se dirigent vers la cathode, tandis que le spirochete de la syphilis va vers l'anode. Szent-Györgyi trouve également que le spirochete de la syphilis humaine va vers le pôle positif.

Nos résultats observés dans de l'eau distillée neutre et stérilisée ont été les suivants :

Gradient de différence de potentiel = 15 à 20 volts.

Microbes allant vers l'anode :

Bacille typhique;

Colibacille;

Bacillus enteridis de Gärtner;

Bacille de la psittacose;

Vibron cholérique Dniepr;

» » Marseille;

» » I. P.;

» de Finckler-Prior;

» metchnikovi;

B. de Löffler;

Staphylocoque;

Bactéridie charbonneuse;

Spores charbonneuse;

Entérocoque;

Proteus X 19 (Sacquepee, Metz, Syrie);

Bacillus lactis aérogènes;

» subtilis;

» Mesentericus vulgatus et niger;

» Pyocyanique;

» Syncyanus;

» Fluorescens liquefaciens;

» Acido-résistant : Karliński, Tobler II, Rabinowitch, Timotée;

Micrococcus prodigiosus;

Bacilles saprophytes des eaux : Micrococcus Cinnabareus, Sarcina aurantiaca.

Microbes allant vers la cathode :

Bacilles dysentériques de Shiga;

» » Flexner;

» » Strong;

» paratyphiques B Schottmeüller;

» » Verdun;

» » Rennes;

» » Conradi;

» » Typhimurium;

» » Drigalski;

» » Kruse.

Pour la plupart des microbes, nous avons examiné plusieurs échantillons.

Pour un certain nombre, nous avons constaté une grande variabilité du signe électrique suivant l'âge de la culture d'où provenait le microbe; il en a été ainsi, par exemple, pour le bacillus fæcalis alcaligenes et le B. paratyphique A.

Si la plupart des microbes vont vers l'anode, leur signe électrique cependant varie avec les différentes espèces envisagées. De plus, le galvanotactisme, quoique passif, de ces microbes, peut être considéré comme un caractère complémentaire de certaines familles, telles les bacilles dysentérique, paratyphique B. Notons cependant un fait assez remarquable dans ce dernier groupe. Les Bacilles enteridis de Gærtner et le Bacille de la psittacose, qui ne se différencient par ailleurs des autres paratyphiques B que par la réaction d'agglutination, ont un signe électrique différent. On peut se demander alors si les phénomènes d'agglutination sont en relation avec la charge électrique des microbes. Nous examinerons ce problème dans un chapitre différent.

Notons que tous les microbes que nous avons examinés avaient leurs mouvements propres.

IV. — *Origine de la charge électrique des microbes*

Le galvanotropisme microbien paraît lié à la charge électrique que porte toute granule en suspension dans un liquide. Or, c'est l'hypothèse de la double couche d'Helmholtz qui semble être la meilleure explication de ces forces électrostatiques.

Pour Helmholtz, chaque couche serait constituée

par de l'électricité libre, l'une adhérente au corps solide, l'autre se trouvant dans le liquide lui-même et pouvant être entraînée le long de la paroi. Pour J. Perrin, ces couches seraient constituées par la condensation des ions libres à la surface des particules. Quand une particule se trouve dans un liquide, une couche d'ions chargée d'électricité négative est adsorbée par la paroi, mais immédiatement au voisinage et pour neutraliser cette charge existe une couche d'électricité positive.

Gouy, par une étude quantitative des phénomènes, a montré que dans une solution très riche en électrolytes, la structure des feuilletts se rapproche des surfaces planes; par contre, ces doubles couches ont une extension et une diffusion d'autant plus grande que la solution est plus pauvre en électrolytes. Gouy et Constantin sont arrivés à calculer l'épaisseur de cette couche double, qui serait de l'ordre du micron dans les solutions aqueuses peu conductrices. Quoi qu'il en soit, la couche externe formée d'ions positifs, peut être assez éloignée des parois, pour nous rendre compte que des particules suffisamment rapprochées puissent se repousser. L'électrisation de contact serait donc un facteur de dislocation de la matière (M^{lle} Choucroun).

Pendant longtemps on est resté dans l'ignorance pour la mesure de la grandeur et du signe de l'électrisation superficielle. On savait, par exemple, que le verre se chargeait négativement dans l'eau, mais il n'existait aucune règle pouvant faire prévoir le sens de la variation de ce signe. Les travaux de J. Perrin

ont permis d'énoncer un certain nombre de règles pouvant s'appliquer aux particules en suspension dans un liquide ionisant comme l'eau.

1° *Action des ions H et OH.* — Quand une paroi est plongée dans de l'eau pure ou dans une solution aqueuse ne contenant que des ions monovalents, son potentiel s'élève toujours, quand on ajoute de l'acide monovalent et s'abaisse toujours quand on ajoute de l'alcali monovalent.

Les parois qui ne sont pas chargées dans l'eau pure, prennent un potentiel positif en milieu acide monovalent, négatif en milieu alcalin monovalent.

Ces variations sont dues à la présence des ions H et OH caractéristiques des acides et des bases.

2° *Action des ions polyvalents.* — Tout ion H ou OH, même polyvalent, ne change pas le potentiel d'une paroi non chargée ou de même signe que lui en milieu neutre. Il n'agit pas davantage si la solution contient celui des ions H ou OH qui a le même signe que lui.

Un ion polyvalent agit d'autant plus que sa valence est plus élevée. Un ion polyvalent négatif abaisse toujours le potentiel d'une paroi plongée dans un milieu acide; un ion polyvalent positif élève toujours le potentiel d'une paroi plongée dans un milieu alcalin; l'une et l'autre variation peut aller jusqu'au renversement du signe de la paroi. Un ion polyvalent est comme mordancé sur la paroi par l'ion de signe opposé H ou OH.

Un facteur général de charge électrique est donc réalisé par la présence d'ions H ou OH, soit direc-

tement, soit par mondançage d'ions polyvalents de signe opposé.

Ces règles générales d'action des ions H ou OH ont été vérifiées dans les cas de nombreuses solutions et des corps solides, tel que charbon, soufre, naphthaline.

Cette action prépondérante des ions H ou OH serait due, d'après Perrin, à leur petitesse ou leur grande mobilité. Plus tard, cet auteur a proposé une autre explication. Les ions H et OH étant constitutifs du solvant devaient, de ce fait, leur action prépondérante. Dès lors, quand une particule en suspension dans un liquide est soumise à un champ électrique, la couche d'ions négatifs adhérente à la paroi est attirée vers le pôle positif, la couche mobile d'ions positifs est attirée vers le pôle négatif. A chaque instant, il y a destruction de la couche double et aussitôt formation nouvelle avec les éléments ioniques du solvant.

En somme, qu'on attribue l'origine de la charge électrique des microbes à l'électrisation de frottement ou à la condensation d'ions à la surface, le galvanotropisme bactérien serait du domaine de la physique capillaire. En réalité, cette simplification du galvanotropisme bactérien ramené à un problème d'osmose électrique n'est qu'apparente. En effet, la grande adsorption des particules pour les ions H et OH, quoique prépondérante, n'est pas exclusive. Il peut exister aussi, d'après les expériences de Bancroft et de Powis sur les colloïdes, une adsorption sélective de certains ions, une sorte de spécificité

d'adsorption, mais on ignore actuellement le mécanisme de ces phénomènes. On voit que si la détermination du signe électrique de particules inorganiques présente encore de nombreuses obscurités, celle des microbes est loin d'être résolue.

V. — *Evaluation de la charge électrique*

Les particules (colloïdes, bactéries) se déplaçant vers l'un ou l'autre pôle possèdent donc une charge électrique qu'il est intéressant d'évaluer.

On peut mesurer cette charge en observant la vitesse que prend cette particule par cataphorèse dans un champ électrique connu.

1° *Méthode d'Helmholtz-Lamb.* — Par la formule d'Helmholtz on a la relation suivante :
$$V = \frac{4 \pi n v}{K X}$$

où en considérant les unités électrostatiques dans le terme de droite pour avoir V en volts il faut multiplier par (300)² puisque une unité électrostatique de différence de potentiel égale 300 volts et que X et v contiennent chacun ce facteur.

V = différence de potentiel entre la particule solide et l'eau en contact.

n = la viscosité de l'eau (environ 0,01).

v = la vitesse des particules en centimètre-seconde.

X = gradient de différence de potentiel par centimètre.

K = la constante diélectrique de l'eau.

Si on considère la particule comme un condensateur sphérique, les armatures étant à distance d,

petite par rapport à r (hypothèse de la couche double d'Helmholtz), l'expression de la capacité peut s'écrire : $C = \frac{Kr^2}{d}$; K = constante diélectrique séparant les armatures.

Si V est la différence de potentiel entre particule et milieu on sait que $CV = e$ (e = charge).

$$\text{Par suite, } e = \frac{Kr^2 V}{d}$$

Si S est la surface supposée sphérique, on a approximativement $e = \frac{Svn}{XI}$, l , étant un coefficient fonction de la viscosité n du liquide et du glissement β liquide-solide ($l = \frac{n}{\beta}$).

2° *Méthode de Lewis*. — Lewis trouve une autre détermination de e par application de la loi de Stokes au lieu de la formule de Lamb (transport d'une petite sphère dans un liquide).

$$\text{Sa formule est : } e = \frac{6\pi n r v}{X}$$

Il ne semble cependant pas qu'on puisse appliquer cette formule. On ne tient pas compte, en effet, de la facilité de glissement des deux couches d'électricité, l'une par rapport à l'autre. Les valeurs de e calculées d'après la loi de Stokes sont donc bien inférieures à la valeur réelle.

3° *Méthode de Burton*. — Cet auteur mesure la charge électrique en calculant le nombre d'ions Al^{+++} nécessaire pour précipiter les particules et rendre nulle la cataphorèse. On sait en effet, d'après la loi de Hardy-Schulze, que les ions portant la charge de signe opposé à celle du colloïde sont les précipi-

tants les plus actifs. En même temps, plus la valence de l'ion est grande, plus l'action précipitante est notable.

Burton détermine la quantité de $(\text{SO}_4)^3 \text{Al}^2$ nécessaire pour amener la cataphorèse des particules à devenir nulle. Ce point, appelé par Hardy point isoélectrique, correspond au moment où la concentration en ions Al a été suffisante pour neutraliser la charge de la granule.

Cet auteur suppose que l'électricité portée par l'ion Al passe intégralement sur la particule, mais la théorie montre cependant qu'on trouve ainsi des valeurs très fortes pour la charge.

4° *Méthode de Vlès.* — Cet auteur, pour calculer la charge électrique des œufs d'oursin, a recommandé une méthode dérivée de celle de Burton. Il utilise, au lieu de l'ion Al, l'action de l'ion H en déterminant la quantité maximum d'ion H fixée par chaque particule au moment de la floculation sous l'influence d'un liquide de pH déterminé.

Il faut remarquer cependant, avec l'auteur, que la floculation ne se produit pas forcément au moment où toute la charge est neutralisée; elle peut avoir lieu souvent avant d'atteindre le point isoélectrique où théoriquement la cataphorèse de la particule doit être nulle. Bien plus, on n'est jamais sûr que seule la charge superficielle de la granule est neutralisée par les ions H; ceux-ci ont pu, par diffusion ou adsorption, agir sur les éléments profonds de la particule.

Quoiqu'il en soit, on voit la très grande approxi-

mation de toutes ces mesures pour l'évaluation de la charge électrique des particules en suspension. Pour les microbes, qui sont loin d'être sphériques et sont de plus animés de mouvements propres, les difficultés et les causes d'erreurs s'accroissent.

Du reste, la valeur absolue de la charge d'un microbe est d'un intérêt secondaire, les variations de cette charge pouvant être appréciées dans les meilleures conditions en recherchant simplement la vitesse de cataphorèse des bactéries dans un champ électrique constant. Cette méthode nous donnera suffisamment de renseignements, en évaluant la vitesse des microbes en micro-secondes à l'aide d'un oculaire portant un micromètre.

VI. — *Variations du signe et de la charge des microbes*

La charge électrique des particules, d'après la théorie d'Helmholtz, étant en relation avec la nature des ions libres contenus dans les solutions où ils se trouvent, les ions H ou OH étant prépondérants dans cette détermination, il semble que le galvanotropisme microbien devra varier suivant le degré d'acidité ou d'alcalinité du milieu. On pourra donc faire apparaître ces modifications en opérant la cataphorèse avec des cultures microbiennes additionnées d'une certaine quantité d'alcali au d'acide.

Ce procédé n'est cependant pas exempt de causes d'erreurs importantes, dues, en grande partie, aux substances protéiques ou aux sels plus ou moins dis-

sociés qui jouent le rôle de tampons dans les milieux. D'autre part, la vie microbienne n'est compatible que dans des limites assez restreintes d'alcalinité ou d'acidité. Si le pH du milieu est trop bas ou trop haut, les microbes ne se développent pas. Aussi, nous envisagerons séparément les variations du signe électrique, pour les microbes vivants ou morts, ces derniers seuls étant susceptibles de parcourir toute la gamme des différents pH d'un milieu.

A. — *Cas des microbes vivants*

Nous nous sommes d'abord proposés d'évaluer la teneur en ions hydrogène des cultures microbiennes et de rechercher les meilleurs et aussi les mauvaises conditions de développement des microbes; puis, en employant successivement les concentrations optima et les concentrations défavorables, nous avons recherché les variations de l'alcalinité ou de l'acidité produite par les microbes.

A cet effet, nous avons acidifié ou alcalinisé dans des proportions variables, une solution d'eau peptonée avec des solutions décimales de HCl et de NaOH; on établissait ainsi toute une échelle de milieu de culture, ayant un pH compris entre 2,90 et 10,83. Nousensemencions alors chacun de ces milieux avec un même microbe et, les portant à l'étuve, nous pouvions constater pour quelles valeurs de pH le développement de la culture était bon, mauvais ou nul.

a) *Concentration optima.* — Nos expériences ont porté sur quelques microbes à signe électrique dif-

fèrent. Les cultures se développent dans les meilleures conditions quand le pH est compris entre 5,20 et 8,42 pour le colibacille ; 3,90 et 7,90 pour le paratyphique B ; 4,80 et 8,63 pour le bacille d'Eberth ; 4,70 et 8,47 pour le bacille de Flexner.

b) *Concentration limite.* — En dehors des concentrations optima définies plus haut, on obtient encore un développement de culture, mais dans de mauvaises conditions, jusqu'à 4,67 et 9,53 pour le colibacille ; 3,44 et 8,36 pour le paratyphique B ; 3,72 et 8,88 pour le bacille d'Eberth ; 3,80 et 8,84 pour le bacille Flexner.

En dehors des concentrations limites ci-dessus, le développement des cultures était nul.

c) *Variations de signe.* — Dans les limites extrêmes de pH compatibles avec le développement microbien, les résultats observés par nous sur nos microbes observées dans leur milieu de culture, ne nous ont pas révélé des modifications dans le signe électrique.

Seule la charge électrique des microbes présente des légères variations, décelées par la vitesse de la cataphorèse.

Voici quelques résultats pour les bacilles Eberth et Flexner :

Gradient de différence de potentiel = 18 volts.

pH	4,50	5,2	6,3	8,5	
Eberth	— 10,9	— 9,2	— 10,7	— 11,5	Vitesse en micro-sc.
Flexner	+ 11,2	+ 9,5	+ 11,7	+ 12,2	—

d) Nous avons recherché aussi dans les cultures où le développement est défectueux par suite d'une con-

centration trop faible ou trop forte en ions hydrogène, comment varie l'alcalinité ou l'acidité en faisant des prélèvements tous les deux jours à l'étuve. Quelques gouttes étaient également prélevées pour l'étude du galvanotropisme.

Voici d'abord les variations de pH des milieux de culture que nous avons obtenus en partant des concentrations limites définies plus haut.

a) *Milieu acide limite :*

	Colibac.	Paratyph B	Eberth	Flexner
Avant l'ensemencement.	4,67	3,44	3,72	3,80
2 jours après.....	4,76	3,65	3,87	3,98
4 —	4,84	3,77	3,94	4,05
6 —	4,86	3,85	4,05	4,17

b) *Milieu alcalin limite :*

	9,53	8,36	8,88	8,84
Avant l'ensemencement.	9,53	8,36	8,88	8,84
2 jours après.....	8,75	8,12	8,81	8,76
4 —	8,58	8,01	8,73	8,68
6 —	8,46	7,95	8,69	8,59

En examinant ces résultats, on peut conclure que dans les cultures à développement ralenti par suite d'une alcalinité ou d'une acidité trop grandes du milieu, les concentrations en ions hydrogène se rapprochent de plus en plus des concentrations optima, comme si le bacille cultivé, manifestait suivant les besoins une fonction alcalinogène ou acidogène, capable de ramener le milieu vers les concentrations optima.

E) Nous avons recherché si, au cours de cette ten-

dance, soit vers l'acidification, soit vers l'alcalinisation du même microbe, il existe des variations du signe électrique.

Voici les résultats pour Eberth et Flexner :

Gradient de différence de potentiel = 18 volts.

pH	3,72	3,87	3,94	4,05	8,59	8,68	8,76
Eberth	- 1,5	- 1,7	- 2,3	- 10,9	- 11,7	- 11,8	- 11,8
Flexner	+ 1,2	+ 1,9	+ 3,4	+ 10,7	+ 11,8	+ 11,5	+ 11,7

On voit que le signe électrique est toujours le même dans les limites où la culture peut se développer, seule la vitesse de transport, et, par suite, la charge du microbe, va rapidement en croissant, quand le pH des milieux de culture augmente.

B. *Cas des microbes morts.*

Dans ces recherches, nous ne nous préoccupons plus de savoir si le milieu où les bactéries sont plongées est favorable à leur développement.

On remplit une série de tubes à essai avec de l'eau stérilisée, privée d'électrolytes, puis on additionne chacun des tubes soit avec HCl soit avec KOH, pour obtenir toute une gamme de pH variant de 1 à 15. Nous faisons la titration par la méthode électrique. Ne pouvant répéter ces expériences très longues sur beaucoup de microbes, c'est sur le bacille d'Eberth que nous avons surtout opéré.

Le microbe est cultivé dans une boîte de Pietri. Avec de l'eau distillée et stérilisée, on fait une émulsion microbienne, qu'on agite ensuite dans un tube, pour avoir une suspension aussi homogène que possible. Nous prélevons alors aseptiquement, une goutte de la suspension qu'on mélange à 4 cm³ de liquide,

dont le pH est déterminé, et c'est sur ce dernier échantillon que portent nos observations de cataphorèse.

Voici les résultats pour le bacille d'Eberth :

pH	1	4,6	2,3	3,2	3,7	4,5	5,1	6,3
Sens du transport ...	+	+	+	-	-	-	-	-
Vitesse en micro-sc. du déplacement....		2	2,5	2	1,2	11,2	9,1	10,8
pH	8,4	9,1	10,2	11,3	12,5	13,4	14,1	15
Sens du transport ...	-	-	-	-	-	+	+	+
Vitesse en micro-sc. du déplacement....	13	12,8	13,5	9,3	5,9	10,8	11,8	13

On voit, par ces tableaux, que dans les régions extrêmes acides ou alcalines, le signe électrique des microbes change. C'est au voisinage de $\text{pH} = 2,7$ et $\text{pH} = 12,8$ que ce renversement se produirait.

Au delà de $\text{pH} = 2,7$ et $\text{pH} = 12,8$, il y aurait donc deux points isoélectriques correspondant à un déplacement nul des microbes dans un champ électrique. Nous n'avons pas pu observer cette immobilité, mais on peut noter que les variations de vitesse sont très faibles au voisinage de pH très bas ou très élevé. Par contre, les bactéries se meuvent avec une vitesse uniformément accélérée, quand on est dans les limites de pH compatibles avec leur vie. On peut donc dire que la charge électrique des bactéries, nulle au voisinage de $\text{pH} = 2,7$ et $\text{pH} = 12,8$, va en augmentant quand on s'éloigne de ces points critiques.

On constate surtout une augmentation de la vitesse de transport entre $\text{pH} = 4,5$ et $\text{pH} = 10,2$. Au delà de $\text{pH} = 10,2$, il y a une diminution de la vitesse, puis une nouvelle augmentation vers $\text{pH} = 13$, qui va en croissant pour les fortes alcalinités. Il semble donc

que la charge électrique des microbes soit maximum entre $\text{pH} = 4,5$ et $\text{pH} = 10,5$, pour s'abaisser vers le pH correspondant au changement de signe.

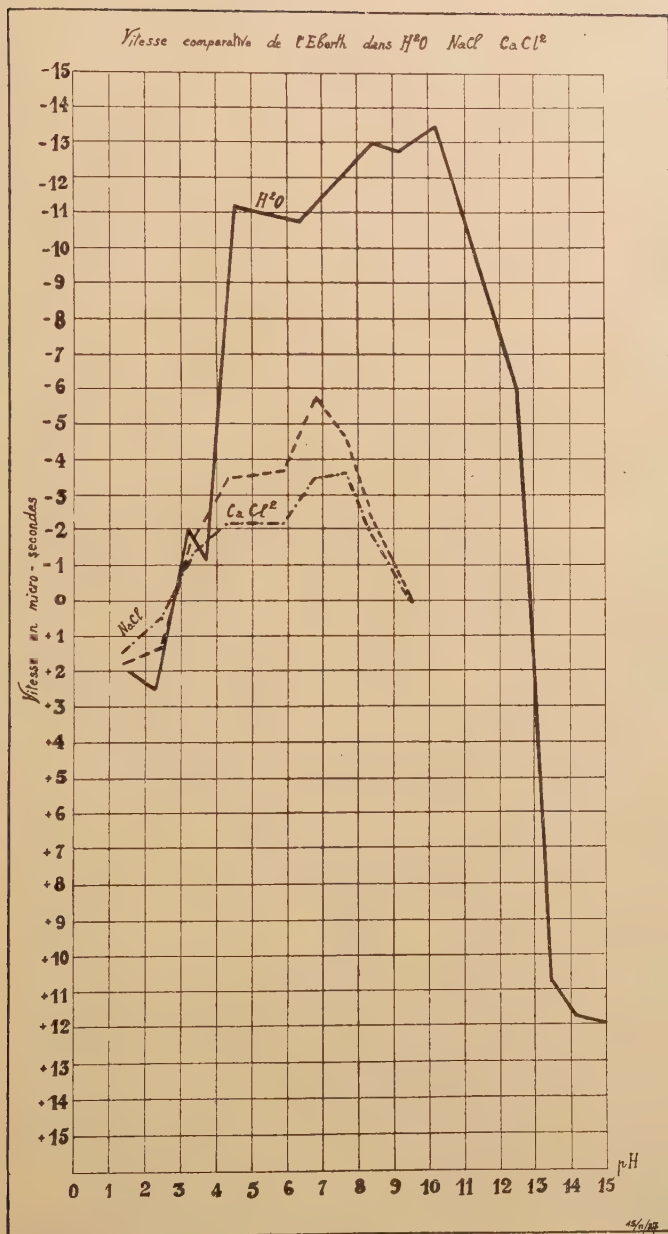
Notons que, vers les solutions à très forte alcalinité, les mesures sont très difficiles, les observations à l'ultra-microscope sont rendues très délicates par suite de l'action de la soude sur l'huile de cèdre, qui se trouve opacifiée.

VII. — *Influence de certains électrolytes sur le signe électrique*

Nous avons refait les mêmes expériences sur le déplacement microbien, mais en ajoutant, dans les différents tubes à pH déterminé, une solution saline soit de NaCl , soit de CaCl_2 . Nos expériences ont porté sur l'Eberth et le tableau suivant exprime nos résultats :

$\text{pH} \dots\dots\dots$	1,4	2,5	3,3	4,3	5,9	6,8	7,6	8,3	9,5	
Eau distillée +	1,8	+ 1,4	— 1,6	— 3,5	— 3,6	— 5,8	— 4,8	— 2,5	0	} Vitesse micro-
Na Cl. M										
$\frac{1}{10}$										
+ Ca Cl ₂ . M										} Vitesse micro-
$\frac{1}{10}$	+ 1,5	+ 0,5	— 1,3	— 2,1	— 2,1	— 3,5	— 3,6	— 2,1	0	

On voit, par comparaison avec les résultats précédents, que, pour une solution ayant un même pH , la présence des sels diminue la vitesse microbienne. Les sels de calcium semblent diminuer la vitesse, beaucoup plus que les sels de sodium. Dans ces expériences, on voit également que pour un pH voisin de 2,8, le signe de la charge électrique des bactéries (Eberth) change.



VIII. — *Interprétation* *Potentiel de Cataphorèse et Equilibre de Donnan*

On peut rapprocher ces résultats de ceux obtenus par Loeb sur les protéines. Or, cet auteur a montré que la diminution de la charge électrique des protéines sous l'influence des sels neutres de NaCl ou de CaCl_2 peut être interprété à la lumière de la théorie de Donnan sur l'équilibre des membranes. On peut donc admettre que, par analogie, l'électrisation des bactéries est régie aussi par le même principe de Donnan.

Pour Loeb en effet, les protéines sont considérées comme des polypeptides, c'est-à-dire comme le produit de la condensation d'un nombre variable de molécules d'acides aminés; ce seraient donc des molécules non seulement volumineuses mais pouvant réagir soit comme acide, soit comme base amphotères. L'état amphotère coïnciderait précisément avec le point isoélectrique. Dans le cas de la gélatine par exemple, celle-ci fonctionnerait comme un radical acide au anion en milieu alcalin et d'autre part, en milieu acide comme radical basique ou cation.

D'autre part, par suite de leur volume énorme, les ions de gélatine ne traversent pas les membranes en collodion; ces ions satisfont alors aux conditions requises pour l'équilibre de Donnan, c'est-à-dire aux variations dans la répartition des électrolytes à l'intérieur et à l'extérieur de la membrane. C'est la différence de potentiel entre le contenu de la membrane

et le liquide extérieur qui permet de déceler cette répartition.

Pour avoir la notion des potentiels de membrane des solutions de protéine dans leur rapport avec l'équilibre de Donnan, Loeb fait l'expérience suivante :

A 100 centimètres cubes d'eau contenant des quantités croissantes de HCl N/10 ajoutons 1 gramme de gélatine isoélectrique; mettons cette solution dans de petits sacs de collodion en relation avec un manomètre, et plaçons le tout dans l'eau; l'eau pénètre la solution jusqu'à ce que l'équilibre osmotique soit établi entre la solution de gélatine et la solution extérieure. Quand cet équilibre est atteint, on voit que la concentration des ions H à l'intérieur de la solution de gélatine est plus faible qu'à l'extérieur, alors que la concentration des ions Cl est plus forte à l'intérieur qu'à l'extérieur. Le rapport de la concentration des ions H dans la solution intérieure, à la concentration des ions H de l'extérieur est le même que le rapport de la concentration des ions Cl de l'extérieur à la concentration des ions Cl de l'intérieur.

Dans la solution de protéine il y a du chlorure de gélatine dissocié électrolytiquement en ions Cl et en ions positifs de gélatine; il y a aussi du HCl libre, A l'extérieur, il n'y a que HCl libre. Soit z la concentration de l'ion Cl correspondant à l'ion gélatine, soit y la concentration du Cl de HCl libre à l'intérieur de la solution de protéine; y est aussi la concentration des ions H libres à l'intérieur de la solution de gélatine. La concentration totale moléculaire des ions Cl,

à l'intérieur est $y + z$. Soit x la concentration totale moléculaire des ions Cl et H, de HCl libre à l'extérieur. Les mesures expérimentales ont montré qu'à l'équilibre osmotique entre une solution de chlorure de gélatine et une solution extérieure aqueuse, la concentration moléculaire des ions hydrogène et des ions chlore n'est pas la même; elle est exprimée par l'équation : $\frac{x}{y} = y(y + z)$

Cette distribution, d'une spécificité frappante, des ions H et Cl des deux côtés de la membrane peut s'expliquer par la théorie de Donnan sur les équilibres de membrane. La membrane de collodion est perméable aux ions H et Cl mais est imperméable aux ions plus gros de la protéine. Donnan a montré par un raisonnement thermodynamique que dans ces conditions, à l'équilibre, les produits des concentrations moléculaires de chaque paire d'ions diffusibles de signes contraires, doivent être égaux des deux côtés de la membrane; c'est ce que l'on a observé.

L'équation précédente $x^2 = y(y + z)$ s'applique aux solutions de protéine quand l'ion combiné à la protéine est monovalent. Quand l'ion est bivalent, l'équation à l'équilibre devient une équation de troisième degré, de la forme : $x^3 = y^2(y + z)$.

Le fait important c'est que l'équation d'équilibre ne dépend que de la valence de l'ion combiné à la protéine et non de sa nature chimique

La cataphorèse notamment des protéines présente un minimum au point isoélectrique, augmentant régulièrement suivant l'augmentation de la réaction acide d'une part et de la réaction alcaline d'autre

part en fonction du pH. En effet, les courbes expérimentales montrent à Lœb que l'addition d'un acide à de la gélatine isoélectrique accroît tout d'abord le potentiel de membrane, qui atteint un maximum, puis baisse brusquement. Ceci serait dû au fait que lorsqu'on ajoute un acide, la protéine isoélectrique, non ionisée ou seulement partiellement, est transformée en un sel de protéine ionisée. La valeur de z se trouve accrue, donc aussi le potentiel de membrane; mais par suite de l'hydrolyse y augmente aussi, toutefois moins vite, au début, que z . A partir du moment où une certaine proportion de protéine est transformée en sel, l'addition ultérieure d'un acide continue à provoquer une élévation de z ; mais cette élévation est moins rapide que celle que subit y . Il en résulte qu'à partir de ce moment, l'addition d'acide abaisse le potentiel de membrane.

La plupart des sels agissent de la même façon que les alcalis ou les acides, augmentant d'abord, pour une concentration toujours croissante, le potentiel de cataphorèse, puis le diminuant. Quand la différence de potentiel maxima est atteinte, une nouvelle addition d'électrolyte provoque la diminution et du potentiel de membrane et du potentiel de cataphorèse.

De plus, la règle de la valence, particulière à l'équilibre de Donnan, s'applique aussi à l'action déchargeante des sels sur le potentiel de cataphorèse. Lœb a comparé l'action des sels à cation monovalent à l'action de sels à cation bivalent sur la diminution

du potentiel de cataphorèse de particules de collodion, de mastic et de graphite.

Nos résultats sur l'action déprimante des sels de NaCl et de CaCl_2 sur le potentiel de cataphorèse des microbes semblent cadrer avec les faits systématisés par Lœb.

Toutefois, il importe de ne pas trop s'illusionner sur la simplification qu'apportent les recherches de Lœb en rattachant la cataphorèse des protéines exclusivement aux données empiriques de l'équilibre de Donnan. On ne peut admettre uniquement l'influence de la concentration en ions H, sans tenir compte d'autres substances fixées sur les protéines et dont la conductivité électrique révèle la présence. La notion du point isoélectrique ne correspond pas à sa signification rigoureuse qui serait celle de la neutralisation par égalité d'ions négatifs et positifs dans un milieu tel que l'eau pure mais correspond à celle d'une matière dont le signe change à la moindre addition de bases étrangères.

Dans nos expériences sur la cataphorèse des bactéries nous avons deux points isoélectriques, l'un dans la zone très acide, l'autre dans la zone très alcaline. Il est possible que ces points critiques correspondent à un état particulier de la matière constituante du microbe. Sous l'influence de fortes alcalinités ou acidités les ions de la gélatine doivent défloculer puisqu'ils traversent les membranes en collodion. Il en serait peut-être de même pour le complexe de protéines analogues aux bactéries où les micelles auraient par exemple la propriété de se disloquer sous

l'influence d'un milieu trop acide ou trop alcalin en se laissant pénétrer par le solvant comme une éponge. Les deux points isoélectriques déterminés par nos expériences précédentes seraient donc les limites extrêmes de la stabilité microbienne.

Quoiqu'il en soit, *ces expériences mettent en évidence l'influence du milieu pour la détermination de la polarité et de la charge électrique des bactéries.*

Cependant, *pour les valeurs de pH qui varient dans les limites compatibles avec la vie microbienne, le signe électrique demeure constant. Seule la vitesse de cataphorèse et, par suite, la charge électrique de la bactérie, se modifie légèrement. Par contre, quand on atteint des acidités ou des alcalinités extrêmes, le signe électrique du microbe change au voisinage de deux points isoélectriques, où la charge du microbe est nulle.*

DEUXIÈME PARTIE

Recherches sur la destruction des microbes par le rayonnement secondaire des rayons X associé au galvanotropisme

Il semble que, dans une étude sur le signe des microbes, le problème de l'action bactéricide des Rayons X soit bien étranger. Nous verrons, cependant, que c'est en utilisant convenablement le galvanotropisme microbien, que nous avons pu réaliser un procédé de destruction rapide des microbes, par les rayons secondaires.

Dans des expériences préliminaires, faites avec le Radium, nous avons pu établir d'abord que si les Rayons γ n'ont aucune action notable sur les microbes, au contraire, les rayons secondaires émis par les parois de platine des tubes radifères, ont une

action bactéricide quand les cultures sont placées dans des conditions spéciales.

Appliquant ces résultats, nous avons essayé, dans une seconde étape, d'obtenir l'effet bactéricide des Rayons X en faisant résonner des radiateurs métalliques susceptibles de produire des rayons secondaires suffisants dans les milieux de cultures.

Au cours de ces recherches, nous avons constaté que la dose de rayonnement nécessaire à cet effet, était considérable. C'est alors que nous avons songé à associer les propriétés du galvanotropisme à un radiateur convenable, pour rendre l'effet vulnérant plus rapide.

CHAPITRE II

Recherches sur les conditions générales
et favorables pour obtenir l'action microbicide
avec les rayons secondaires émis par le radium

HISTORIQUE

Quand on utilise le rayonnement primaire du Radium, on peut mettre en évidence l'action bactéricide de ce corps, en utilisant les rayons corpusculaires.

C'est ainsi que Trebel, Aschkinass et Gaspari, en irradiant le *micrococcus prodigiosus*; Pfeiffer et Friedberger, en opérant sur le bacille typhique et le bacille du choléra; Dixon, sur le bacille pyocyanique; Hoffmann, sur le staphylocoque ont obtenu des résultats positifs. Au contraire, Freund, Giesel et Walkhoff n'ont observé aucune action.

Les expériences positives faites avec l'émanation du Radium sont dues, vraisemblablement aussi, à un rayonnement corpusculaire. Dorn, Baumann, Valentiner ont constaté cet effet sur les bacilles typhiques, du choléra, de la diphtérie. Bouchard et Balthazard

ont vu que l'émanation introduite dans la cavité péritonéale d'un cobaye peut le préserver de l'infection pyocyannique, quand elle est faite au moment de l'inoculation. London a constaté que des microbesensemencés sur gélatine et introduits dans un ballon ayant contenu de l'émanation quelques semaines auparavant, ne se développent pas.

Ainsi, dans toutes les expériences qui ont été positives, on peut attribuer l'action microbicide aux rayons corpusculaires ou β émis, soit par un sel radifère, soit par l'émanation. D'ailleurs, Courmont et Nogier ont observé récemment, que les Rayons γ n'ont qu'une action atténuatrice faible, même avec des doses élevées de 20.621 milligrammes-heures de RaBr^2 , $2\text{H}^2\text{O}$; ces auteurs supprimaient complètement au moyen d'écrans appropriés, l'action des rayons corpusculaires, primaires et secondaires.

Recherches personnels

L'échantillon de Radium utilisé (50 mgr. de RaBr^2 , $2\text{H}^2\text{O}$) était contenu dans un tube à paroi de platine de 0 mm. 5 d'épaisseur. Avec ce dispositif réalisé en somme par les appareils radifères couramment employés en thérapeutique, les rayons γ traversent seuls la paroi de platine, dont la face émergente constitue ainsi un foyer d'émission de rayons β secondaires.

Nos expériences ont porté surtout sur le bacille pyocyannique et sur le bacille d'Eberth. Les cultures, formées d'eau peptonéeensemencée, étaient placées dans des tubes de verre de 10 mm. de diamètre intérieur et l'appareil radifère était immergé dans l'eau peptonée.

Des tubes témoins non irradiés nous servaient de contrôle.

1° *Action du rayonnement sur les cultures âgées de 24 heures.* — Plusieurs expériences dont l'une comportait 40 jours d'irradiation, n'ont montré aucune différence, soit dans l'abondance, soit dans la morphologie des microbes, par comparaison avec les témoins.

2° *Action du rayonnement sur les cultures en état de développement ralenti.* — Nous ensemençons un tube d'eau peptonée avec deux gouttes de culture de 24 heures, et nous le laissons à la température du laboratoire (16°) au lieu de le placer dans l'étuve à 37°, de manière à ralentir le développement de la culture.

Dans ces conditions, une irradiation de 7 jours nous a donné un retard de 12 jours dans le développement de la culture irradiée ; les tubes témoins ont poussé en 48 heures.

3° *Action du rayonnement sur les cultures à l'état de vie latente.* — Nous avons songé alors, à suspendre complètement le développement des microbes, en les maintenant à la température de la glace fondante, pour avoir ainsi le temps de faire absorber la totalité de la dose mortelle aux mêmes éléments jeunes.

A cet effet, le tubeensemencé contenant le Radium, ainsi qu'un tube témoin, était maintenu à la température de 0° pendant toute la durée de l'irradiation ; un second tube témoin était laissé à la température du laboratoire (16° environ). Des prélèvements de la culture irradiée et des cultures témoins étaient effec-

tués aussitôt après la fin de l'irradiation ; ces prélèvements étaient ensemencés et laissés à l'étuve à 37°. Voici, à titre d'exemple, les résultats obtenus avec le bacille d'Eberth ; les signes — et + signifient respectivement que les prélèvements n'ont pas ou ont poussé.

Séjour du prélèvement dans l'étuve	Tube irradié (0°)	Tube témoin (0°)	Tube témoin (16°)
Exp. I. — <i>Temps d'irradiation : 6 jours</i>			
24 heures	—	+	+
48 heures	+	+	+
Exp. II. — <i>Temps d'irradiation : 8 jours</i>			
24 heures	—	+	+
48 heures	—	+	+
65 heures	+	+	+
Exp. III. — <i>Temps d'irradiation : 12 jours</i>			
24 heures	—	+	+
48 heures	—	+	+
72 heures	—	+	+
7 jours	—	+	+

Ces expériences, et quelques autres analogues, nous ont permis de conclure qu'une irradiation de 6 jours détermine une action inhibitrice de 24 heures; une irradiation de 12 jours, soit 14.000 mgr.-heures de bromure de radium hydraté, étant nécessaire pour amener la stérilisation complète de nos cultures de bacille d'Eberth. Avec le bacille pyocyanique, il suffisait de 7 jours, soit 8.400 mgr.-heures, pour atteindre la dose bactéricide.

A ces expériences, on pourrait objecter que le rayonnement des tubes de Radium pendant un si

long séjour, pouvait infertiliser le bouillon de culture, sans avoir une action directe sur les microbes. Nous avons irradié de l'eau peptonée pendant 7 jours, 15 jours, 30 jours : l'ensemencement consécutif a été toujours constamment positif.

Il est à remarquer que, dans nos expériences, la dose mortelle est plus grande pour le bacille d'Eberth que pour le bacille pyocyanique ; en outre, le colibacille s'est montré réfractaire à la dose de 8.400 mgr.-heures, qui détruisait le pyocyanique.

Bien plus, la dose bactéricide, non seulement est variable avec l'espèce microbienne, mais elle ne semble pas être spécifique pour les races d'une même espèce. Nous avons constaté, en effet, que, pour un bacille pyocyanique de la race P. de Gessard, la dose précédente a produit un simple retard de 12 heures, et non la stérilisation, comme avec le bacille de la race F.

Indépendamment des considérations concernant ces variations d'espèces ou individuelles, dans les modes d'action de l'appareil radifère, on pouvait se demander si la stérilisation ne serait pas atteinte avec une dose plus petite, en prolongeant le séjour des cultures à la température de la glace, longtemps après la fin de l'irradiation.

Voici le résultat d'une expérience avec le bacille d'Eberth :

Tube	Durée d'irradiation	Durée de séjour à la glace	Résultats de l'ensemencement
Irradié	8 jours	8 jours	Culture pousse en 48 h.
Témoin	nulle	8 jours	— — 24 h.
Témoin	nulle	nulle	— — 24 h.
Irradié	8 jours	8+12 jours	Stérile
Témoin	nulle	8+12 jours	Pousse en 24 heures
Témoin	nulle	nulle	— —

Ainsi, après 8 jours d'irradiation, on obtient un simple retard de 48 heures si le prélèvement est fait aussitôt après la fin de l'irradiation ; on constate la stérilisation complète de la même culture si le prélèvement est fait 12 jours après la fin de l'irradiation, la culture ayant été toujours maintenue à 0°.

On voit donc, comme c'est la règle du reste en biologie, que l'intégralité de l'effet ne se produit pas instantanément ; une période latente est nécessaire pour permettre à toute l'action du Radium de se manifester.

4° *Détermination de l'action qui est due au rayonnement primaire et de celle qui est due au rayonnement secondaire.*

Comme dans toutes les expériences précédentes, les rayons traversaient la paroi de platine, il restait à rechercher la part qui revenait à ces radiations dans l'action bactéricide. Dans une série de recherches, nous avons éliminé la plus grande partie des rayons secondaires du platine, au moyen d'un écran en verre de 1 millimètre d'épaisseur, qui enveloppait complètement le tube radifère à paroi de platine.

Dans ces conditions, le bacille pyocyanique, irradié à la température de la glace, pendant 12 jours, ne subit qu'un léger retard (10 heures environ), dans le développement de la culture.

Ainsi, les rayons γ qui sortent du tube radifère dans la proportion de 95 % sont inoffensifs et c'est l'amortissement des rayons β secondaires qui produit seul l'action nocive. Quand les rayons β secondaires du Radium frappent des cultures jeunes, placées à l'état de vie ralentie, ils peuvent produire l'inhibition des micro-organismes. Si les microbes sont à l'état de vie latente, non seulement les rayons β du Radium peuvent produire leur inhibition, mais parfois même, avec des doses suffisantes et un temps de latence variable, leur destruction complète.

Par contre, avec des cultures âgées de 24 heures, l'action des rayons secondaires était absolument nulle.

Au point de vue pratique, ces résultats montrent notamment la nécessité de faire une asepsie rigoureuse des tubes radifères de platine employés en curiethérapie, l'action bactéricide ne pouvant se manifester qu'après des durées bien supérieures aux temps d'irradiation employés en thérapeutique.

CHAPITRE III

Recherches sur l'action microbicide des rayons secondaires produits par les rayons X

Le mode d'action des Rayons X sur les microbes est, sans doute, analogue à celui des rayons γ du Radium. Mais on s'explique que l'expérimentation soit difficile avec les Rayons X, si l'on considère à quelle dose considérable de bromure de radium (8.000 à 14.000 milligrammes-heures) il nous a fallu recourir, pour observer une action bactéricide. D'autre part, s'il est possible, avec les rayons γ du Radium de faire résonner le platine ou d'autres radiateurs à poids atomiques élevé, le champ d'action des Rayons X est limité par le degré de dureté de l'ampoule. Aussi, faut-il faire un choix judicieux du radiateur et du rayonnement primaire excitateur, de manière à avoir non seulement les rayons β secondaires, mais encore les rayons secondaires caractéristiques (série K, L, M.), qui, eux-mêmes, donnent encore des rayons β en s'amortissant.

1. — *Recherches antérieures*

Le problème de l'action des Rayons X a suscité des recherches nombreuses qui ont conduit à des résultats très divers. Aucun accord définitif n'est encore fait sur la valeur bactéricide des Rayons X.

1° *Les Rayons X et les microbes.* — Dès 1896, quelques mois après la découverte de Röntgen, un médecin munichois, Minck, essaye d'agir sur les bactéries avec les nouvelles radiations. Des expériences faites sur le bacille typhique avec l'ampoule primitive de Hittorf, furent tout à fait négatives. De même, presque à la même époque, d'autres recherches, faites par Sornani avec l'ampoule de Crookes sur le vibron cholérique, les bacilles typhiques et pyocyanique, ne donnent aucun résultat quant aux modifications sur la rapidité du développement, la coloration, la fluorescence ou la virulence de ces bactéries.

C'est Lortet et Genoud qui apportent les premiers documents positifs. Ces auteurs expérimentent sur le bacille de Koch, non pas en l'irradiant *in vitro*, mais en faisant agir les Rayons X sur les ganglions inguinaux de plusieurs cobayes inoculés avec ce microbe. La durée de l'irradiation étant de 28 jours, et pendant 1 heure chaque jour. Dès le 14^{me} jour, alors que les ganglions témoins étaient déjà ramollis, les irradiés ne présentaient que des noyaux durs et bien localisés.

Cependant, malgré tout l'intérêt que pouvaient présenter, dans le domaine thérapeutique, ces expériences, elles ne furent pas poursuivies, sans doute à cau-

se de l'insuccès des recherches entreprises par d'autres auteurs.

En effet, Berton, en irradiant un bouillon de culture de bacille de Löffler pendant 64 heures, n'observe aucun effet bactéricide. Les recherches de Beck et Schultz, en employant des rayons de 12 cm. de longueur d'étincelle, sur les bacilles pyocyanique, *micrococcus prodigiosus*, staphylocoque, colibacille, restent négatives. Wittlins n'est pas plus heureux, et il est admis, dès lors, que les Rayons X n'ont pas d'effet bactéricide.

Mais, Frantzius, publie des expériences qui sont une première tentative de réaction contre cette croyance. Il irradie dans des petites boîtes d'aluminium une émulsion de moelle d'un lapin mort de la rage. Le régime de l'ampoule était de 2 milliamp. et 4 cent. de longueur d'étincelle ; après une irradiation d'une heure et demie, l'auteur trouve que l'injection de la moelle irradiée avait une virulence diminuée.

Les recherches de Sabrazès et Rivière, sur le *micrococcus prodigiosus*, irradié pendant 20 jours, à raison de 1 heure par jour, restent négatives. De même Blaise et Sambuc ne peuvent constater aucun effet bactéricide en irradiant le bacille pyocyanique. Beauregard et Guichard n'ont également aucun résultat positif. Cependant Rieder, en utilisant la nouvelle ampoule Bauer, arrive à stériliser en quelques minutes le bacille du choléra, le *bacillus prodigiosus*, le bacille diphtérique, le bacille typhique. Les rayons étaient très mous et, dans chaque expérience, on donnait 30 fois environ la dose érythème, mais les préparations

étaient à peine éloignées de 10 centimètres de l'anticathode, et ni les phénomènes calorifiques, ni les phénomènes électriques, n'étaient éliminés.

En opposition avec tous ces résultats, Welfend et Forbes-Ross trouvent une action stimulante des Rayons X sur le développement des cultures microbiennes, en agissant avec de faibles doses de radiation. Par contre, Basselt et Smith, en 1901, obtiennent un retard dans le développement d'une culture irradiée de bacille de la peste, mais ils n'observent aucun effet sur le bacille typhique, le vibrion cholérique et le bacille *melitensis*. Aschkinass et Gaspari, en irradiant le *prodigiosus* pendant plusieurs heures, n'ont aucun résultat. Ces auteurs, pour éliminer les phénomènes électrostatiques, entouraient l'ampoule d'un véritable filet métallique, qui restait constamment en communication avec le sol. De même Seitz, en 1905, ne trouve pas d'effet bactéricide, même en irradiant pendant 48 heures les bacilles *prodigiosus*, typhique et diphtérique.

Cependant, les travaux de Holz knecht et de Spieler sur le bacille pyocyanique, confirment les résultats positifs de Rieder. Ces auteurs font une irradiation de une heure, avec un ampoule molle. De même Seitz, conclut à des résultats positifs, en utilisant des rayons très mous, dont il favorise la sortie en pratiquant, dans l'ampoule, un petit orifice obturé par une plaque en aluminium. Avec des rayons très mous, ayant une étincelle équivalent de 600 volts, il stérilise ainsi au bout d'une demi-heure, une culture de bacilles d'Eberth. Mais le gros reproche qu'on fait

à sa technique, c'est qu'avec le dispositif utilisé, il s'agissait bien plus de l'effet bactéricide des rayons cathodiques que des Rayons X eux-mêmes. En 1906, les recherches de Scholz, de Russ, de Krause, de Jals-tram n'aboutissent à aucun résultat ; ce dernier irradiait des cultures de colibacille ou de bacille typhique, pendant 3 semaines, à raison de 10 minutes chaque jour, avec une ampoule Muller fonctionnant à 10 centimètres d'étincelle équivalente, et 1 milliampère.

En somme, de toute cette analyse, on peut retenir que les résultats sont très contradictoires, mais presque toujours négatifs ; il semble cependant apparaître que c'est l'emploi des rayons mous qui a conduit quelquefois à une action bactéricide.

L'utilisation du rayonnement secondaire des Rayons X a suivi les essais à peu près infructueux, du rayonnement primaire lui-même.

2° *Les rayons secondaires des Rayons X et les microbes.*

A part quelques recherches de Krause et de Schwartz sur l'irradiation des graines, c'est aux travaux de l'électro-radiologiste italien Ghilarducci que l'on doit les premières recherches vraiment positives. Cet auteur, après avoir étudié, en 1914, l'action du rayonnement secondaire du bismuth sur l'estomac des lapins, publie, en 1921, des expériences concernant l'action des rayons secondaires sur les microbes. Il ensemence des boîtes de Pietri, avec une culture de bacille *prodigiosus*, ou de bacille de pyocyanique ; une lame métallique d'or, d'argent ou d'un autre métal, est au voisinage de la culture. Les Rayons X pri-

maires, rencontrent d'abord la culture, puis la plaque métallique et, dans ces conditions, l'auteur a constaté la stérilisation de la zone qui se trouve au voisinage du métal. Le phénomène serait d'autant plus évident que le poids atomique du métal est plus lourd ; avec l'aluminium, l'action serait insignifiante.

Les résultats, en réalité, ont été d'intensité variable. Comme le dit l'auteur : « L'activité des rayons secondaires se manifeste soit par un retard, soit par la carence du développement du bacille, dans la zone qui correspond à la lamelle métallique avec des modifications dysgénésiques des colonies apparues. »

II. — *Recherches personnelles*

Utilisant les données acquises dans nos expériences antérieures sur le rayonnements secondaire du Radium, nous avons appliqué la technique suivante pour les Rayons X.

Les microbesensemencés dans l'eau peptonée étaient maintenus à la température de la glace fondante pendant toute la durée de leur irradiation. Des radiateurs métalliques, massifs ou colloïdaux, étaient plongés au sein même de la culture dans de petits cristallisoirs, recouverts par une mince couche de papier filtre ; le rayonnement primaire était fourni par une ampoule Coolidge, dont l'anticathode était à 30 centimètres des milieux. Des culturesensemencées et maintenues également à la glace, mais non irradiées, nous servaient de contrôle. Opérant d'abord avec un rayonnement primaire constant, nous avons

fait varier la nature du radiateur et l'espèce microbienne.

A. *Expériences avec les radiateurs massifs.* — Nous avons employé successivement un rayonnement mou et un rayonnement pénétrant.

1° *Action des rayons mous* (7-8 cent. d'étincelle équivalente, 1,5 milliampère). — Les radiateurs étaient de poids atomique faible, tels que aluminium, fer, cuivre ; la durée de l'irradiation était d'environ une heure et demie chaque jour.

Voici les résultats d'une expérience faite avec le bacille d'Eberth, en désignant par + le développement de la culture, et par — l'absence totale de développement :

Temps d'irradiation	Tube témoin contenant les radiateurs			Tube irradié contenant les radiateurs		
	Al	Fe	Cu	Al	Fe	Cu
3 heures	+	+	+	+	+	+
6 heures	+	+	+	(24 h. de retard)	+	+
9 heures	+	—	+	(48 h. de retard)	—	—
12 heures	+	—	—	—	—	—

Nous ne pouvons rien conclure des expériences effectuées avec les radiateurs fer et cuivre, car les témoins non irradiés mais contenant les radiateurs étaient également stérilisés, par suite de la formation de sels antiseptiques résultant de l'action de l'eau peptonée sur les métaux.

Cependant, avec le radiateur aluminium, nous avons pu mettre en évidence, à la 6^{me} heure de l'irra-

diation, un retard de 24 heures sur le développement de la culture témoin ; à la 9^{me} heure, ce retard était de 48 heures, et, au bout de 12 heures d'irradiation, la stérilisation définitive était obtenue.

Dans une autre série d'expériences, nous nous sommes adressés au bacille dysentérique (Flexner), dont le signe électrique est positif, contraire, par suite, au signe électrique de la plupart des microbes. Voici les résultats obtenus après un temps d'irradiation de 14 heures (90 minutes pendant 9 jours) :

Radiateurs	Tube témoin	Tube irradié
Cobalt.....	+ en 48 heures	—
Cadmium.....	—	—
Nickel.....	+ en 18 heures	—
Sélénium.....	+ en 18 heures	+ en 18 heures
Bismuth.....	+ en 18 heures	+ en 18 heures

Cette expérience et d'autre analogues nous ont montré que les radiateurs sélénium et bismuth n'ont aucune action bactéricide. Avec le cadmium, les cultures irradiées restent stériles, mais les cultures témoins le demeurent également ; par contre, les radiateurs constitués par le cobalt et le nickel émettent un rayonnement bactéricide très net.

Il semble donc, qu'en utilisant les rayons primaires mous, plus le poids atomique des radiateurs augmente, moins bien se manifeste l'effet bactéricide, celui-ci devient même négligeable pour les corps à poids atomique élevé (sélénium, platine, bismuth).

Il est intéressant d'observer, en outre, que, dans

ces dernières expériences, le microbe soumis à l'irradiation (bacille dysentérique de Flexner), était électropositif et paraissait ainsi, par suite de son signe électrique, devoir être influencé facilement par les rayons secondaires β qui sont, comme on sait formés d'électrons, c'est-à-dire d'atomes d'électricité négative.

2° *Action des rayons moyennement pénétrants* (Ampoule Coolidge, 20 cm. d'étincelle équivalente, 1,5 milliampère). — Dans ces conditions, il importait de choisir un radiateur de poids atomique tel qu'il puisse résonner sous l'action du rayonnement primaire. D'après les travaux de Bragg, Moseley, de Broglie, il existe une relation entre la fréquence du rayonnement primaire excitateur et les rayons fluorescents caractéristiques émis par les radiateurs. Avec le degré de pénétration relativement moyen que nous utilisons, il était impossible de faire produire les rayons secondaires fluorescents à des corps de poids atomique très élevé, comme le bismuth, le platine. On pouvait espérer un résultat avec des radiateurs de poids atomique voisin de celui de l'argent. Mais ce dernier corps étant bactéricide par lui-même, nous ne l'avons pas utilisé, et nous nous sommes arrêtés à un radiateur de nickel, inattaquable par les milieux de culture.

Les essais étaient réalisés sur le bacille d'Eberth, le bacille dysentérique, le vibrion cholérique, le bacille paratyphique B.

Voici le résultat de 30 heures d'irradiation (90 minutes pendant 20 jours) :

Microbes	Tube témoin	Tube irradié
Bacille d'Eberth	+	+
Dysentérique Flexner	+	+
Dysentérique Hiss	+	+
Vibrion cholérique	+	+
Paratyphique B	+	+

3° *Action des rayons pénétrants* (Ampoule Coolidge dans l'huile; 40 cm. d'étincelle équivalente, 3 milliampères). — Nous avons utilisé le bacille d'Eberth ou le bacille Flexner. Comme radiateurs, nous avons employé des corps à poids atomique variable tels qu'aluminium, nickel ou platine. L'irradiation était faite soit sans filtration soit avec filtre de 1 mm. d'Al. et 0,1 mm. de Cu.

Dans tous ces essais et malgré une dose forte d'irradiation atteignant 22.400 R répartie en 8 jours, les cultures se sont montré aussi actives avant qu'après l'exposition aux Rayons X.

Plusieurs épreuves nous donnant les mêmes résultats, nous avons pu conclure *qu'en utilisant soit des rayons primaires moyennement pénétrants (20 cm. d'étincelle équivalente), soit des rayons primaires pénétrants (40 cm. d'étincelle équivalente), on n'obtient pas de rayonnement secondaire microbicide par excitation d'un radiateur de poids atomique faible, tel que le nickel, ou très faible comme l'aluminium, ou très élevé comme le platine.* Nous répétons qu'il ne nous a pas été possible d'essayer le radiateur argent, par suite de la formation de sels antiseptiques au contact des milieux de culture.

B. Expériences avec les radiateurs colloïdaux. —

Les expériences ont été effectuées en mélangeant une suspension colloïdale avec de l'eau peptonée (2 cm³ 5 de solution colloïdale, avec 1 cm³ 5 d'eau peptonée). Les irradiations étaient faites en maintenant l'eau peptonée, ensemencée avec quelques gouttes de culture de bacille d'Eberth, à la température de la glace fondante.

Voici le résultat d'une expérience.

Ampoule Coolidge de 8-10 cm. d'étincelle équivalente, 14 heures d'irradiation.

Radiateurs colloïdaux	Tube irradié	Tube témoin
Manganèse	+	+
Fer.....	+	+
Sélénium.....	+	+
Argent	—	—
Platine.....	+	+

Il n'y a donc pas eu d'effets bactéricide. *Les cultures mélangées avec des solutions colloïdales se sont développées en même temps que les témoins, sauf celles qui renfermaient l'argent.*

Mais avec l'électrargol, les cultures témoins se sont montrées également stériles ; on sait d'ailleurs quel puissant antiseptique constitue cette substance.

Du reste, des recherches complémentaires nous ont montré que les *Rayons X* n'ont aucun effet floculant sur les préparations colloïdales, comme si ces corpuscules ultramicroscopiques n'absorbaient pas les radiations de courte longueur d'onde.

CHAPITRE IV

Action simultanée du galvanotropisme et des rayons X pour produire l'effet bactéricide

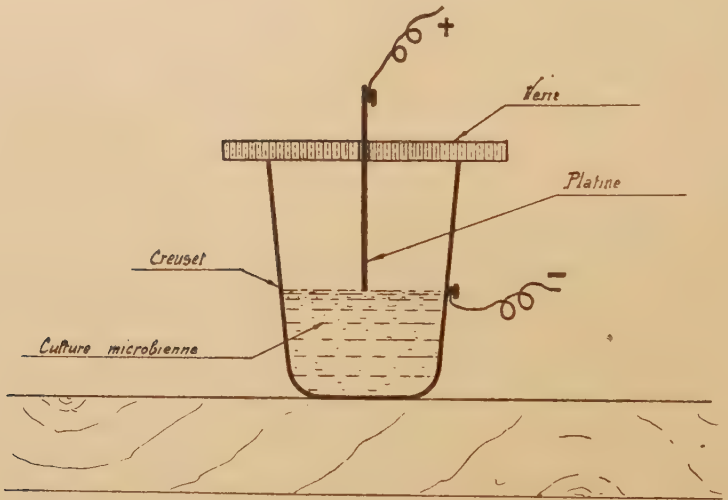
Les recherches précédentes mettent en évidence la dose énorme de radiations nécessaires pour obtenir la stérilisation des microbes. Si on ne considère que les Rayons X, on voit que ceux-ci ne possèdent pas d'action bactéricide directe, seuls les rayons secondaires agissent, et encore, à condition d'irradier pendant une douzaine d'heures des cultures jeunes, maintenues à l'état de vie ralentie.

Il nous a paru que la très grande mobilité des éléments microbiens était la cause de la prolongation de l'irradiation, ceux-ci échappent sans doute aux effets des rayons secondaires, dès qu'ils s'éloignent des radiateurs.

Ghilarducci, avait résolu d'ensemencer les microbes sur une culture de gélose ; les bactéries étant

ainsi fixées on approchait un radiateur métallique de la régionensemencée aussi près que possible, et il a pu ainsi stériliser des microbes avec une dose notablement inférieure à la nôtre.

Action Bactéricide des Rayons X associés au Galvanotropisme



Nous avons songé, en utilisant un milieu de culture liquide, de rassembler les microorganismes au contact même des radiateurs.

A cet effet, utilisant la propriété galvanotropique des microbes, nous évitons leur dispersion, en les attirant vers une plaque électrode qui nous sert également de radiateur.

Notre dispositif était le suivant : un petit creuset

de nickel servait de radiateur électrode, ce métal s'étant montré, d'après les expériences précédentes, très propice pour produire des rayons secondaires, avec un rayonnement X primaire, de pénétration moyenne.

On introduisait l'émulsion microbienne, en eau distillée et stérilisée dans le creuset, que l'on fermait ensuite par un couvercle de verre, portant un orifice central, bouché au coton ; une aiguille de platine, constituant la deuxième électrode, traversait le bouchon de coton et plongeait dans le liquide. Le rayonnement primaire était fourni par un tube Coolidge, fonctionnant sous 15 cm. d'étincelle équivalente, avec une intensité de 2 milliampères ; en même temps, on fait passer, à travers l'émulsion, un courant continu de 40 à 50 volts et 2 milliampères environ. Le creuset de nickel était distant de 20 cm. environ de l'anticathode du tube, et sa polarité était fixée par le signe électrique du microbe considéré, celui-ci devant être entraîné vers le radiateur électrode à nickel.

Deux microbes de signe différent ont été choisis pour ces expériences, le bacille d'Eberth, électro-négatif, et le bacille dysentérique, du type Flexner, électro-positif ; ils provenaient de cultures âgées de 24 ou 48 heures. D'ailleurs, deux expériences témoins étaient toujours réalisées ; une partie de l'émulsion considérée, était soumise à la seule action du courant continu, sans aucune irradiation, tandis qu'une autre partie de l'émulsion était conservée pour servir de terme de comparaison au moment des ensemencements.

Les résultats ont été les suivants :

Le bacille d'Eberth (électro-négatif) a toujours été stérilisé complètement (8 expériences), après deux heures d'irradiation et de galvanotropisme, associé quelle que soit la concentration de l'émulsion (jusqu'à 5 milliards de microbes au centimètre cube).

Nous avons, en outre, effectué quelques expériences en changeant la polarité du radiateur et de l'aiguille de platine.

Quand le radiateur de nickel était négatif et avait, par suite, le même signe électrique que les microbes, on n'obtenait pas d'action bactéricide, mais il se produisait parfois un très léger retard dans le développement de l'ensemencement.

Le bacille de Flexner (électro-positif), a présenté des résultats identiques au précédent. On a observé, en effet, pour ce microbe, la stérilisation complète après deux heures d'irradiation et de galvanotropisme associés, mais alors seulement, quand le creuset de nickel servant de radiateur et d'électrode, avait le signe contraire à celui du microbe.

Notons que, dans certaines expériences où nous avons utilisé un courant relativement fort (100 volts, 10 milliampères) la stérilisation s'est produite, quelle que soit la polarité du creuset de nickel.

En résumé, nous avons pu abaisser considérablement la dose bactéricide des Rayons X, à deux heures d'irradiation, correspondant à environ 120 H en produisant le galvanotropisme des microbes vers un radiateur de nickel, soumis lui-même à un rayonnement X de pénétration moyenne.

TROISIÈME PARTIE

Propriétés physico-chimiques des immunserums en relation avec le signe électrique des microbes

Quand, dans certaines conditions, on injecte à un animal des bactéries, son sérum acquiert des propriétés nouvelles. L'une des manifestations les plus caractéristiques de cette activité, est certainement le pouvoir que présente le sérum d'agglutiner les microbes qui lui ont été inoculés. Ainsi, si par exemple, dans une culture de bacilles typhiques délayée dans quelques centimètres cubes de solution physiologique, on ajoute quelques milligrammes de sérum antieberthien, on constate que l'émulsion microbienne, uniformément laiteuse, se résoud en flocons blanchâtres, se rassemblant au fond du tube, tandis que le liquide qui surnage devient de plus en plus liquide. Chaque

flocon examiné au microscope est formé par un amas de bactéries immobilisées et adhérentes les unes aux autres, comme si elles étaient engluées par une substance visqueuse. On dit que l'immunsérum agglutine les microbes. Cette propriété remarquable est, du reste, appliquée constamment en clinique pour le séro-diagnostic.

Cependant, le mécanisme de l'agglutination est encore enveloppé de beaucoup d'obscurités. Sans entrer dans le détail des diverses théories proposées (Gruber, Paltauf), il semble qu'avec Bordet, on puisse rapprocher l'agglutination, des phénomènes physiques de floculation, qui prennent naissance dans certaines solutions colloïdales. Ainsi, Bordet, met en évidence l'influence des électrolytes, pour provoquer l'agglutination microbienne, de même que dans une solution alcoolique de mastic homogène et limpide, une trace de sel provoque la précipitation. D'autres expériences analogues permettent d'admettre que l'agglutination comme la floculation est sous la dépendance des phénomènes de nature physico-chimiques. Ainsi, de cette conception, est née une étude comparative entre les processus d'agglutination et les phénomènes d'adsorption et de floculation des colloïdes. Nous citerons, en particulier, les recherches de Michaelis sur la détermination de la concentration des ions H d'un acide capable de produire une agglutination, puis ceux de Bechold, Neisser et Friedmann, Henri, Girard-Mangin, sur les conditions de floculation des émulsions microbiennes, sous l'influence de certains colloïdes.

Ce rapprochement entre les phénomènes d'agglutination et les réactions habituellement observées dans les solutions colloïdales, nous ont amené à envisager le problème avec les données que nous avons acquises précédemment sur le signe électrique et la stabilité des microbes.

A cet effet, deux groupes de recherches nous ont surtout retenu.

1° Quant un animal est en préparation d'immunité, peut-on déceler, dans le sérum, des modifications d'ordre physico-chimique et, en particulier, de la concentration en ions hydrogène ?

2° Etant donné un sérum agglutinant, existe-t-il une relation entre cette propriété et le signe de la charge électrique du microbe ?

CHAPITRE V

Variations de la concentration des ions H dans les immunsérums

On sait que le sang présente une constance remarquable dans ses propriétés physico-chimiques et, qu'en particulier, l'équilibre acido-basique du plasma est très difficile à rompre, car il est conditionné, d'une part, par les sels tampons (carbonates, phosphates), dont la dissociation permet de compenser immédiatement des variations de l'alcalinité; d'autre part, par le système régulateur que forment les poumons et les reins. Grâce à la ventilation pulmonaire, toutes modifications de la teneur en CO_2 du sang réagit sur le centre respiratoire qui, en faisant varier les échanges gazeux rétablit la concentration optima en ions hydrogène; quant aux reins, ils contribuent au rétablissement de l'équilibre acido-basique, en présidant à l'élimination des phosphates. De ce qui précède, il

résulte que les variations de la concentration ionique dans le sang, compatibles avec la vie, sont très faibles et qu'il ne faut pas s'attendre à observer des grandes différences dans les valeurs du pH sous l'action des divers agents.

De ce qui précède, il résulte qu'avant d'aborder l'étude des variations de l'alcalinité du sérum, au cours d'un problème si spécial et complexe, tel que l'immunisation, il est nécessaire de voir comment se comporte le pH du sérum au cours d'un certain nombre d'autres processus bien caractéristiques, tel que le choc anaphylactique ou l'irradiation des organes hématopoïétiques, qui, bien que n'ayant pas de rapports étroits avec l'immunisation, nous donnerons une indication sur le sens et les modalités de ces variations. C'est de l'examen comparatif de ces divers résultats que des conclusions pourront être tirées sur l'importance de la variation du pH.

I. — Modification de la concentration du sang en ions hydrogène au cours du choc anaphylactique

Quelques auteurs, comme Zunz et La Barre, ont étudié, par la méthode colorimétrique, les modifications de la teneur en ions hydrogène du plasma. En Colaboration avec le D^r Milhaud, nous avons entrepris des recherches sur le sang total, par la méthode électrique, pour déceler des modifications de pH, au cours du choc anaphylactique expérimental.

A cet effet, des cobayes étaient sensibilisés par in-

jection intra-péritonéale, soit de 0,5 cc. de caséine, soit de 0,5 cc. de sérum de cheval normal.

L'injection déchainante était produite 3 à 6 semaines après l'injection sensibilisante, par injection sous-arachnoïdienne, soit de 0,25 cc. de caséine, soit de 0,25 cc. de sérum.

Deux prises de sang, par ponction intra-cardiaque, étaient pratiquées sur chaque cobaye. La première, le jour même de l'injection déchainante. La deuxième ponction intra-cardiaque était effectuée, quelques minutes après l'injection déchainante, au moment où les phénomènes anaphylactiques se présentaient avec la plus grande intensité.

On recueillait ainsi, chaque fois, environ 1 cc. de sang, qu'on diluait dans son double volume de solution de NaCl à 8,5 pour 1.000, privée de CO², et contenant quelques grains d'hirudine. On sait, en effet, qu'avec cette technique, le pH du sang n'est pas modifié et l'on évite la coagulation. La détermination de la concentration des ions H était faite par la méthode électrométrique, avec électrode de calomel saturé.

Dans ces conditions, nous avons obtenu les nombres ci-dessous :

Cobayes	pH avant le choc	pH après le choc
1 (Caséine)	7,45	7,32
2 (Caséine)	7,29	7,13
3 (Caséine)	7,42	7,31
4 (Sérum)	7,33	7,30
5 (Caséine)	7,38	7,32
6 (Sérum)	7,36	7,33

7 (Sérum).....	7,35	7,31
8 (Caséine).....	7,36	7,28
9 (Caséine).....	7,35	7,24
10 (Caséine).....	7,33	7,27

Il est à remarquer d'abord, que chez les cobayes n'ayant pas été sensibilisés, la valeur moyenne du pH reste normale ; elle oscillait entre 7,30 et 7,45 : *L'injection sensibilisatrice ne paraît donc pas influencer la concentration en ions H. De plus, après l'injection sensibilisatrice, les animaux ne présentent aucune variation appréciable du pH, jusqu'au moment de l'injection déchainante. Enfin, le tableau ci-dessus montre, qu'à la suite du choc anaphylactique expérimental, on note toujours une diminution marquée de l'alcalinité du sang.* Ces résultats concordent avec ceux obtenus sur le plasma par d'autres auteurs.

II. — *Variations de la concentration ionique du sang sous l'action des rayons X*

Nos recherches ont porté sur l'animal et sur des sujets malades.

A) *Chez les animaux* (lapins) les irradiations ont été effectuées exclusivement sur la région splénique, avec des doses et des pénétrations variables du rayonnement X évaluées, soit à l'ionomètre de Solomon, soit à l'intensiomètre de Gaiffe-Pilon.

Dans une première série d'expériences, nous avons fait agir une dose et une pénétration moyenne : 2.200 R, sous filtre de 2 mm. d'aluminium, avec 20

cm. d'étincelle équivalente et 2 milliampères ; dans une deuxième série d'expériences, la dose et la pénétration étaient beaucoup plus fortes : de 4.000 à 5.000 R, sous filtre de 1 mm. d'aluminium et 0,1 mm. de cuivre, avec 40 cm. d'étincelle équivalente (200.000 volts) et 3 milliampères ; enfin, dans une troisième série d'expériences, la dose était de 6.200 R, tantôt sans filtration métallique, et tantôt sous filtre de 1 mm. d'aluminium et 0,1 mm. de cuivre, avec 200.000 volts et 3 milliampères. Pour les deux dernières séries d'expériences, où le rayonnement était ultra-pénétrant, on utilisait l'installation à tension constante du Centre anticancéreux de Lyon, avec tube immergé dans l'huile.

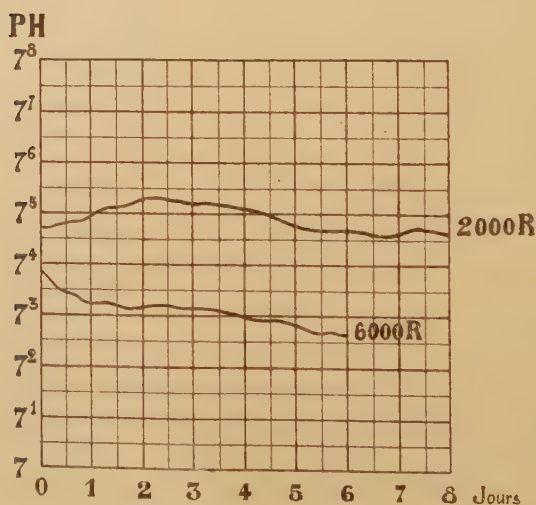
Les animaux soumis aux deux premières séries d'expériences, où les doses variaient de 2.200 à 5.000 R, n'ont présenté ni choc apparent, ni radiodermite, ni amaigrissement, et le sang n'a subi qu'une faible augmentation passagère de l'alcalinité du deuxième au sixième jour, après l'irradiation ; le pH s'est élevé chez trois sujets, par exemple respectivement de 7,48 à 7,51 ; de 7,69 à 7,74 ; de 7,46 à 7,51 pour reprendre bientôt sa valeur initiale.

Mais les animaux de la troisième série (dose de 6.000 R), avec ou sans filtrage métallique, étaient, au contraire, fortement éprouvés ; ils présentaient de la diarrhée, avec un amaigrissement progressif et mouraient après quelques jours. Les variations de la concentration en ions hydrogènes étaient bien caractéristiques : Dès les premières heures qui suivaient la fin de l'irradiation, on obtenait un abaissement notable

du pH, qui s'accroissait les jours suivants. D'ailleurs, le choc était d'autant plus marqué et l'acidose était d'autant plus rapide et forte que, pour la même dose, le filtrage était plus important. Ainsi, chez un lapin soumis au rayonnement filtré seulement par l'huile environnant le tube, le pH est descendu de 7,53 à 7,43, 24 heures après l'irradiation, et l'animal succombait au 20^{me} jour. Chez un second animal, soumis à la même dose sous filtre de 0,1 de mm. de cuivre et 2 mm. d'aluminium, le pH est descendu de 7,61 à 7,51 à la 3^{me} heure, à 7,39 au 3^{me} jour et la mort survenait au 8^{me} jour.

Action du Rayon X sur le PH du sang.

200.000 Volts . 3 mm A . 0 filtre . Distance de l'anticathode 34^{cm}



Notons que du *sérum ou du plasma frais, soumis in vitro dans les mêmes conditions, aux mêmes doses d'irradiation, n'ont pas révélé de modifications appréciables de la concentration en ions hydrogène.*

B) *Nos recherches sur l'homme* ont été effectuées sur les malades du Centre anticancéreux, qui sont soumis à la radiothérapie.

Avant nous, Pagniez, Coste et Solomon, ont fait connaître que des irradiations de sujets normaux ou atteints d'affection légère à la dose de 500 R, sur la région splénique, produisent, dans 83 % des cas, une alcalose constatable, une heure après l'irradiation, et qui peut durer jusqu'à 24 heures et plus. Un seul sujet présenta une légère diminution d'alcalinité. Avec des irradiations ultra-pénétrantes, l'alcalose est notablement plus forte qu'avec un rayonnement moyennement pénétrant. Ces auteurs font observer qu'il s'agit là de l'effet produit probablement sur le sang lui-même, car, l'irradiation d'autres régions (hépatique, thoracique, palmaire), produit avec la même fréquence une alcalose aussi importante.

Nous avons examiné le sérum de 18 malades atteints de néoplasmes divers; les irradiations étaient donc localisées sur des régions très différentes suivant le sujet (langue, maxillaire, utérus, rectum, etc.), les doses variaient de 1.500 à 2.000 R, sous filtre de 0,5 mm. de cuivre et 2 mm. d'aluminium, avec la tension de 200.000 volts.

Dans 12 cas, soit 66 %, on constatait une légère augmentation du pH (voisine de 0,05) dès le 2^{me} jour, et l'alcalose se continuait encore au 8^{me} et 10^{me} jour.

Trois semaines après l'irradiation, le pH avait repris sa valeur initiale. Chez 6 malades, soit 33 %, on constatait, au contraire, une très faible diminution passagère d'alcalinité.

Ainsi, bien qu'il soit observé chez des néoplasiques, ces résultats coïncident avec ceux obtenus chez les sujets normaux par Pagniez, Coste et Solomon ; nous avons cependant observé plus fréquemment une légère acidose.

III. — *Variations d'alcalinité du sérum au cours de l'immunisation*

Dans ces recherches, nous avons évalué le pH du sérum pour décélérer les variations, soit pendant la période préparatoire de l'immunisation (lapins), soit au cours de l'immunité déjà acquise (chevaux).

A) *Au cours de l'immunisation d'un animal, contre un microbe donné, peut-on observer des modifications notables de l'alcalinité du sérum ?*

Nous nous sommes servi de lapins, qui ont été soumis à l'immunisation vis-à-vis du bacille d'Eberth, du bacille dysentérique (type Flexner) ou de ces deux microbes en même temps (immunisation mixte), au moyen d'injection sous-cutanée de ces bacilles atténués par un vieillissement de 15 jours environ. Le pH était mesuré huit jours après chaque injection ; voici les valeurs obtenues :

	Valeurs du p^H au cours de l'immunisation contre :					
	Bacille d'Ebart		Bacille de Flexner		B. d'Eberth et B. de Flexner	
	Lapin A	Lapin B	Lapin C	Lapin D	Lapin E	Lapin F
Avant la première injection ..	7,64	7,58	7,54	7,68	7,59	7,53
8 jours après	7,62	7,57	7,54	7,69	7,57	7,51
16 jours après	7,59	7,54	7,50	7,65	7,54	7,51
24 jours après	7,60	7,56	7,51	7,64	7,54	7,51
32 jours après	7,63	7,56	7,53	7,66	7,56	7,50
40 jours après	7,63	7,56	7,56	7,67	7,59	7,54
48 jours après					7,58	7,55

On voit par les nombres ci-dessus, qu'au début de l'immunisation, il se produit une légère diminution de l'alcalinité ionique.

B) Chez les animaux immunisés contre des infections différentes, existe-t-il des différences appréciables et significatives entre l'alcalinité des sérums ?

Nos expériences ont porté sur des chevaux immunisés contre divers microbes ; le p^H était mesuré aussitôt qu'on pouvait recueillir le sérum après la coagulation.

Nous remercions le Professeur P. Courmont, Directeur de l'Institut Bastériologique de Lyon, de nous avoir permis d'utiliser le sérum des chevaux de l'Institut.

Voici nos résultats :

1° Immunisation contre la toxine diphtérique (immunité anti-toxique). Deux sujets en expérience. Valeurs du p^H : 7,59 — 7,62.

2° Immunisation anti-diphtérique (immunité anti-toxique et anti-microbienne). Deux sujets en expérience. Valeurs du pH : 7,59 — 7,57.

3° Immunisation antitétanique (immunité anti-toxique). Huit sujets. Valeurs du pH : 7,36 — 7,22 — 7,37 — 7,51 — 7,13 — 7,36 — 7,53 — 7,28.

4° Immunisation antistreptococcique. Deux sujets. Valeurs du pH : 7,16 — 7,64.

L'examen comparatif des chiffres ci-dessus se rapportant à quatre cas d'immunités différentes, *montre qu'il n'existe pas de différences importantes entre l'alcalinité des sérums correspondant à des toxines ou à des microbes différents.*

C) Cas particulier de la tuberculose expérimentale chez le cobaye.

Dans le même ordre d'idées nous avons entrepris en collaboration avec le Professeur Arloing des recherches sur le cobaye tuberculeux pour déceler des variations de l'alcalinité ionique du sang au cours de l'infection tuberculeuse.

Dans une première série d'expériences, on a prélevé du sang par ponction cardiaque, tous les 15 jours environ à un même cobaye tuberculeux. Ces cobayes avaient été tuberculisés en injectant sous la peau diverses doses variant de 1 à 10 gouttes d'une émulsion d'organes tuberculeux. Les résultats de nos mesures sont les suivants :

(pH moyen des cobayes normaux = 7,28 à 7,36).

Cobaye 1	Cobaye 2	Cobaye 3
7 ^e jour pH = 7,33	11 ^e jour pH = 7,34	14 ^e jour pH = 7,35
20 ^e — = 7,37	38 ^e — = 7,34	76 ^e — = 7,39
62 ^e — = 7,40	91 ^e — = 7,41	
99 ^e — = 7,46		
Cobaye 4	Cobaye 5	Cobaye 6
15 ^e jour pH = 7,35	12 ^e jour pH = 7,34	8 ^e jour pH = 7,36
67 ^e — = 7,46	62 ^e — = 7,37	46 ^e — = 7,33
		92 ^e — = 7,37

Ces nombres montrent *qu'au cours de l'évolution de la tuberculose expérimentale, la concentration du sang en ions hydrogène se modifie en général dans le sens d'une augmentation de l'alcalinité*. Il est vrai que cette modification comporte des irrégularités individuelles et de plus la variation constatée ne suit pas une marche régulièrement progressive chez tous les cobayes. Ainsi dans les vingt premiers jours, alors que la généralisation ganglionnaire régionale est surtout prédominante, le pH du sang n'est pas sensiblement modifié.

D'autre part, nous avons mesuré le pH du sang des cobayes tuberculeux six mois après l'inoculation sous la peau d'une émulsion de crachats bacillaires; le sujet était alors en pleine généralisation tuberculeuse et à l'autopsie présentait des lésions caractéristiques, locales et viscérales.

Chez dix sujets les valeurs du pH ont été : 7,48 — 7,47 — 7,31 — 7,48 — 7,47 — 7,32 — 7,49 — 7,47 — 7,45 — 7,34, soit 7,42 en moyenne.

Ici on voit que sept animaux sur dix présentaient au 90^e jour de l'infection, un pH supérieur à la moyenne habituelle que l'on obtient chez les cobayes (7,28 à 7,36).

D) *Conclusions.* — *Sauf en ce qui concerne la tuberculose expérimentale chez le cobaye, nous avons décelé au cours de l'immunisation, malgré la constance de l'équilibre acido-basique du sérum, une légère baisse de l'alcalinité du sérum se produisant surtout dans la période initiale.*

Ces résultats peuvent être rapprochés soit de l'acide que nous avons aussitôt après le choc anaphylactique chez les cobayes sensibilisés par des injections intrapéritonéales de caséine, soit chez des animaux soumis aux doses très fortes d'irradiation par les rayons X.

Il est vrai que chez les animaux immunisés (cheval, lapin) le pH du sérum est voisin de celui des animaux normaux de la même espèce et en raison des variations individuelles, il est impossible de dire si les faibles différences observées dépendent de la spécificité de l'immunité.

Cependant, si faibles qu'elles soient, ces variations de l'alcalinité ionique du sérum, observées au cours de processus différents indiquent que lors de l'immunisation il s'est produit un trouble important de l'équilibre acido-basique, accompagné d'un certain degré de mûrissement ou de floculation des colloïdes du sérum ainsi qu'une perturbation dans l'état électrique des micelles et de l'équilibre de membrane de Donnan.

CHAPITRE VI

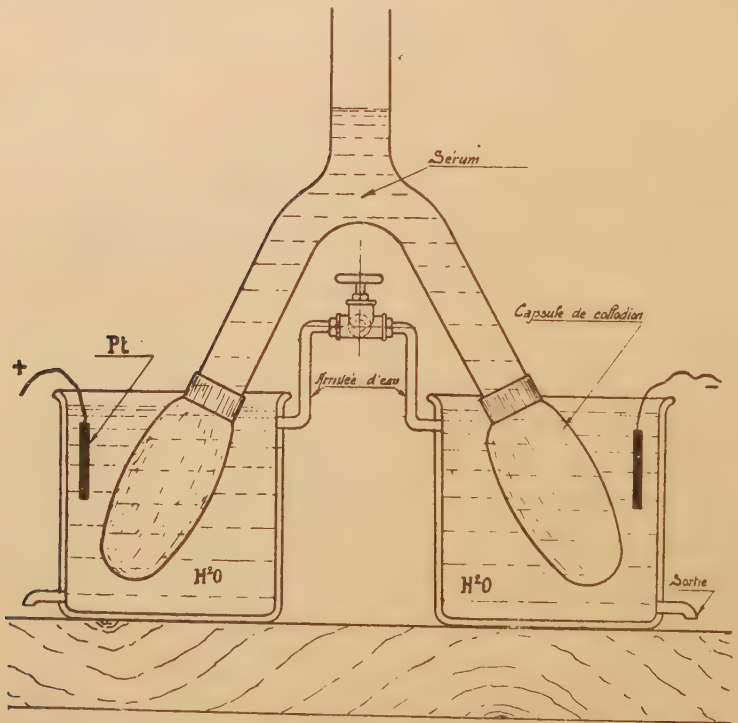
Variations du pouvoir agglutinant des immunsérums en relation avec le signe électrique des microbes

Les recherches précédentes ayant montré qu'au cours de l'immunisation, le sérum d'un animal présente une variation d'alcalinité ionique assez appréciable, on peut admettre que ces variations de pH influent sur la charge électrique des éléments colloïdaux du sérum. Dès lors, si avec les conceptions physico-chimiques on ramène les phénomènes d'agglutination à un simple processus de floculation, on devrait chercher la nature du mécanisme dans la décharge des colloïdes du sérum par les bactéries correspondantes. C'est ce problème que nous avons essayé de résoudre dans ce dernier chapitre.

Les conditions de la détermination du signe électrique des microbes nous étant connues, des difficul-

ités assez grandes se sont présentées quand il s'est agi de faire la répartition des colloïdes du sérum en les soumettant à l'action d'un champ électrique.

Electrophorese des Sérums



En effet, les actions secondaires d'électrolyse gênent beaucoup dans l'appréciation des effets obtenus à chacun des deux pôles.

Le meilleur dispositif qui nous a donné le plus de satisfaction a été constitué par un tube de verre en forme de Y renversé, dont les deux branches, ayant 8 centimètres de longueur sont fermées à leur extré-

mité inférieure par un sac de collodion. Chacune des branches du tube plonge par son extrémité inférieure dans un récipient contenant de l'eau qui se renouvelle constamment. On fait passer dans le sérum le courant continu à 220 volts, au moyen de deux électrodes de platine plongeant dans le récipient à eau courante. On réalise une intensité très faible, d'environ 0,25 milliampères; les phénomènes polaires d'électrolyse sont réduits au minimum et les cristalloïdes du sérum passent par osmose, à travers le collodion, dans l'eau sans cesse renouvelée des récipients.

Dans ces conditions, on peut admettre qu'il existe, outre les phénomènes d'électrolyse et d'osmose une cataphorèse des substances colloïdales du sérum, conditionnée par le signe électrique de celles-ci.

A la fin de l'expérience, dont la durée variait de 7 à 15 jours, des prélèvements du sérum étaient effectués au niveau de chaque pôle du tube en Y renversé, pour mesurer le pouvoir agglutinant vis-à-vis du bacille considéré.

Nous avons expérimenté sur le sérum anti-Eberthien et sur le sérum anti-dysentérique espérant mettre mieux en évidence les actions électriques polaires en choisissant deux bacilles ayant des signes électriques opposés (le bacille d'Eberth est électro-négatif et le B. de Flexner est électro-positif).

I. — *Electrisation du sérum agglutinant anti-Eberthien*

Deux lapins reçoivent successivement et à huit jours d'intervalle des injections de 1 cm³, 2 cm³, 3 cm³ et 4 cm³ de bacilles d'Eberth atténués par un vieillissement de 15 jours environ.

Huit jours après la dernière injection, le taux d'agglutination du sérum vis-à-vis de l'Eberth est de 1 pour 5.000 pour le lapin N° 1, et de 1 pour 1.000 pour le lapin N° 2.

Après électrisation du sérum, l'agglutination a été obtenue au taux suivant :

	Lapin n° 1	Lapin n° 2
Sérum témoin, agglutination complète à	1 p. 5.000	1 p. 1.000
Sérum prélevé au pôle négatif, agglutination complète à	1 p. 5.000	1 p. 200
Sérum prélevé au pôle positif, agglutination complète à	1 p. 20.000	1 p. 2.000
Sérum prélevé au pôle positif, agglutination incomplète, mais nette à	1 p. 50.000	1 p. 2.000

Ainsi, le pouvoir agglutinant s'est montré beaucoup plus élevé dans l'échantillon prélevé au pôle positif que dans celui qui avait été prélevé au pôle négatif. Nous avons observé ce même fait, non seulement sur les deux lapins de l'expérience qui vient d'être rap-

portée, mais dans trois autres expériences réalisées antérieurement avec des techniques un peu différentes.

II. — *Electrisation du sérum agglutinant antidysentérique (Flexner)*

Deux lapins reçoivent successivement et à huit jours d'intervalle des injections de 1,5 centim. cube, 2 cm³ et 3 cm³ de bacilles de Flexner atténués par vieillissement. Huit jours après la dernière injection, les animaux sont saignés et le sérum est soumis à l'électrisation; l'agglutination de Flexner s'est faite au taux ci-dessous :

	Lapin n° 1	Lapin n° 2
Sérum témoin agglutination		
complète à	1 p. 2.000	1 p. 2.000
Sérum prélevé au pôle négatif à	1 p. 20.000	1 p. 20.000
Sérum prélevé au pôle positif à	1 p. 2.000	1 p. 200

Le bacille d'Eberth soumis à l'action des trois échantillons de sérum n'a été agglutiné à aucun taux : *la spécificité a été conservée*. Un mois après, le lapin N° 2 reçoit une nouvelle injection de bacille anti-dysentérique (3 cm³) atténué par vieillissement; il est saigné au 12^e jour et le sérum, après une électrisation de huit jours, donne l'agglutination complète aux taux suivants :

Sérum témoin	1 p.	2.000
Sérum prélevé au pôle négatif	1 p.	100.000
Sérum prélevé au pôle positif	1 p.	1.000

Nous avons constaté en outre que le bacille d'Eberth et le bacille paratyphique B. soumis à l'action des trois échantillons de sérum n'ont été agglutinés à aucun taux.

Les résultats de ces trois dernières expériences *montrent que le pouvoir agglutinant, dont la spécificité vis-à-vis du Flexner a été conservée, a considérablement augmenté au pôle négatif et très notablement diminué au pôle positif.*

III. — *Electrisation d'un immunsérum mixte*

Nous avons immunisé des lapins avec des microbes de signe électrique différent.

Deux lapins sont immunisés en même temps contre le bacille d'Eberth et contre le bacille dysentérique du type Flexner, par injections, à huit jours d'intervalle, de doses progressivement croissantes de culture de ces deux microbes (1 à 2 cm³ de chaque culture de 24 heures). Le lapin N° 1 a reçu 7 injections doubles, le lapin N° 2 en a reçu 12 pour obtenir des sérums agglutinants à des taux élevés.

La durée de l'électrisation a été pour les deux sérums de 8 à 10 jours à 220 volts, l'intensité étant en moyenne de 0,25 milliampère. A la fin de l'expérience, des prélèvements du sérum ont été effectués au niveau de chaque pôle du tube en Y renversé

pour mesurer le pouvoir agglutinant vis-à-vis du bacille considéré.

Voici les résultats obtenus :

Lapin N° 1 (7 injections)

	Eberth	Flexner
Sérum prélevé au pôle négatif, agglutination complète		
à	1 p. 1.000	1 p. 2.000
Sérum prélevé au pôle positif, agglutination complète		
à	1 p. 10.000	1 p. 50

Lapin N° 2 (12 injections)

Sérum prélevé au pôle négatif, agglutination complète		
à	1 p. 100	1 p. 50.000
Sérum prélevé au pôle positif, agglutination complète		
à	1 p. 20.000	1 p. 50

Ainsi le pouvoir agglutinant s'est montré beaucoup plus élevés vis-à-vis du bacille d'Eberth avec l'échantillon de sérum prélevé au pôle positif, chez nos deux animaux en expérience. Il s'est montré, au contraire beaucoup plus élevé vis-à-vis du bacille dysentérique du type Flexner avec l'échantillon de sérum prélevé au pôle négatif.

IV. — **Agglutination et spécificité**

Nous avons recherché d'autre part, si la spécificité du pouvoir agglutinant avait été conservée, même

vis-à-vis des microbes apparentés au bacille d'Eberth et au bacille de Flexner et qui peuvent présenter, dans les conditions normales, une coagglutinabilité plus ou moins élevée.

Les deux sérums ont donc été mis en contact avec des microbes de chacune des deux familles et les résultats ont été les suivants :

	Pôle +		Pôle —	
	Lapin 1	Lapin 2	Lapin 1	Lapin 2
<i>Famille de l'Eberth</i>				
Agglutination du bacille paratyphique A	1 p. 20	1 p. 20	1 p. 5	1 p. 10
Agglutination du B. para B. (type Schottmuler) .	1 p. 500	1 p. 500	1 p. 200	1 p. 500
Agglutination du B. para B. (type Aertryck)	1 p. 50	1 p. 20	1 p. 10	1 p. 50
Agglutination du B. enteritidis de Gaertner	1 p. 20	1 p. 20	1 p. 5	1 p. 10
Agglutination de la psittacose Gaertner	0	0	0	0
<i>Famille Flexner</i>				
Agglutination du bacille Shiga	0	0	0	0
Agglutination du B. de Hiss	1 p. 50	»	1 p. 2000	»
Agglutination du B. de Strong	1 p. 50	»	1 p. 200	»

Les coagglutinations, malgré le passage du courant continu dans le sérum, persistent, mais sans qu'on puisse dire si elles sont influencées par l'électrisation au point de vue quantitatif. En tout cas, les taux obtenus indiquent que les sérums étudiés ont conservé leur spécificité habituelle.

Conclusions

1. — *Galvanotropisme actif ou passif* *Transport électrique des bactéries*

I. — GALVANOTROPISME ACTIF OU PASSIF. TRANSPORT ÉLECTRIQUE DES BACTÉRIES.

1° Le galvanotropisme actif ou passif ne serait qu'une modalité d'un même processus physico-chimique conditionné par les règles habituelles de l'osmose électrique.

2° Nous avons réalisé le transport électrique des bactéries en nous servant d'une cellule examinée au microscope, les électrodes amenant le courant étant constituées par des touffes de coton de verre. Cette interposition de filaments minces de verre entre lame et lamelle réalise une cellule d'épaisseur convenable pour une observation correcte de cataphorèse.

3° La plupart des microbes sont électro-négatifs quand ils sont examinés en eau distillée ne contenant

pas d'électrolyte. Parmi les microbes électro-positifs se trouvent notamment ceux de la famille des dysentériques et des paratyphiques. L'âge de la culture intervient dans la détermination du signe d'un même microbe.

4° L'origine de la charge électrique des microbes semble devoir être attribuée à l'adsorption d'ions à leur surface, les ions H et OH étant prépondérants. L'évaluation de la charge électrique peut se faire d'une façon approximative en observant la vitesse de déplacement de la bactérie dans un champ électrique constant.

5° Le signe et la charge électrique des microbes dépendent de la constitution ionique des milieux où ils se trouvent. Nous avons trouvé que pour des valeurs de pH comprises entre 2,7 et 12,8, le signe électrique ne change pas. Seule la vitesse de cataphorèse et par suite la charge passe par un maximum pour une valeur de pH comprise entre 4,5 et 10,2.

Pour les acidités et les alcalinités extrêmes on constate que le signe électrique des microbes s'inverse.

Au voisinage de $\text{pH} = 2,7$ et $\text{pH} = 12,8$ la vitesse de cataphorèse tend vers 0. Il y aurait donc là deux points iso-électriques.

Dans les limites de pH compatibles avec la vie microbienne, le signe électrique est constant, seule la valeur de la charge se modifie.

6° Le signe électrique varie sous l'influence de sels neutres de Na et de Ca qu'on ajoute dans les milieux. Pour des milieux ayant un même pH la présence des sels diminue la charge des microbes.

Les sels de Ca diminuent cette charge beaucoup plus que les sels de Na.

Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Lœb pour la cataphorèse des protéines dans les milieux à pH différent. Il semble que par analogie, les règles relatives à l'équilibre de membranes de Donnan doivent intervenir pour conditionner les variations de la charge électrique des microbes.

II. — *Destruction des microbes au moyen du rayonnement secondaire des rayons X associé au galvanotropisme*

7° Nous avons utilisé les propriétés de galvanotropisme des microbes pour essayer de les détruire au moyen de rayons secondaires du radium ou des Rayons X.

Les conditions nécessaires et suffisantes pour que le rayonnement secondaire du radium puisse déterminer un effet stérilisant, sont assez particulières :

Sur les cultures âgées de 24 heures, les rayons secondaires même à très forte dose ne déterminent aucune action.

Il est nécessaire que le développement des cultures jeunes soit ralenti par le maintien, par exemple, des milieux à la température de la glace fondante, pour mettre en évidence un effet nocif net des rayons secondaires.

8° Dans ces conditions, le rayonnement secondaire émis par le paroi de platine d'un tube de Dominici

contenant 50 milligrammes de bromure de radium, peut détruire une colonie microbienne jeune sur une épaisseur de un demi-centimètre. La durée d'irradiation nécessaire pour obtenir ce résultat est considérable (7 à 12 jours) à cause de la faible proportion des rayons β secondaire émis par l'appareil radifère; il n'existe d'ailleurs pas de dose spécifique pour des microbes de même espèce ou de même race. En outre, l'action bactéricide n'est pas immédiate; pour se manifester complètement, l'action des rayons secondaires demande une certaine période de latence.

9° L'utilisation en microbiologie du rayonnement secondaire des Rayons X est plus complexe, car elle est conditionnée par le choix convenable des rayons primaires excitateurs et du poids atomique des radiateurs.

Avec les rayons primaires mous, nous avons observé un effet inhibiteur et même stérilisant en utilisant des radiateurs à poids atomique relativement faible (aluminium, cobalt, nickel). En augmentant le poids atomique du radiateur, l'action bactéricide diminue.

10° Avec des rayons primaires pénétrants l'emploi d'un radiateur à poids atomique faible (nickel) ou très élevé (platine, bismuth) est resté sans résultat.

En somme, un radiateur ne peut devenir bactéricide que si on réussit à le faire résonner en l'excitant avec un rayonnement convenable.

11° Divers échantillons colloïdaux utilisés comme radiateurs et excités soit avec des Rayons X mous, soit avec des Rayons X durs, nous ont donné des résultats négatifs.

12° On peut abaisser considérablement la dose bactéricide des Rayons X en utilisant le galvanotropisme des microbes vers une plaque de nickel irradiée elle-même par un rayonnement X de pénétration moyenne.

III. — *Propriétés physico-chimiques des immunosérums en relation avec le signe électrique des microbes*

13° L'étude des modifications de la concentration du sang en ions hydrogène au cours du choc anaphylactique a montré que l'injection sensibilisatrice chez les cobayes ne paraît pas influencer sur le pH; on note seulement une diminution marquée de l'alcalinité du sang au cours même du choc anaphylactique.

14° Chez les animaux soumis à l'action des Rayons X, la concentration du sang en ions hydrogène paraît varier dans le sens d'une alcalose légère et fugace, pour des doses et des pénétrations moyennes ou fortes.

Au contraire, il se produit une acidose durable dans les cas de très fortes doses (6.000 R); la mort de l'animal survient rapidement dans ce dernier cas.

15° Chez les malades présentant des néoplasmes de diverses régions et dont la tumeur venait d'être soumise à une irradiation ultra-pénétrante de 1.500 à 2.000 R., nous avons constaté une alcalose faible pendant quelques jours, chez le plus grand nombre de sujets, et une très légère acidose dans quelques cas.

16° Au cours de l'immunisation, surtout dans la période initiale, on n'observe qu'une diminution

légère de l'alcalinité du sérum. Cependant, le sens des variations du pH n'est pas constant. Ainsi, au cours de l'évolution de la tuberculose expérimentale chez le cobaye, nos recherches montrent que la concentration du sang en ions hydrogène se modifie dans le sens d'une augmentation de l'alcalinité. D'autre part, chez les animaux immunisés (cheval et lapin) le pH du sérum est voisin de celui des animaux normaux de la même espèce et il est impossible de dire, en raison des variations individuelles, si les faibles différences observées dépendent de la spécificité de l'immunité.

17° Quand on soumet un sérum agglutinant à l'influence d'un champ électrique on trouve que son pouvoir agglutinant augmente à l'un des pôles et diminue à l'autre; l'augmentation se fait à l'anode pour le sérum anti-Eberthien et à la cathode pour le sérum anti-dysentérique.

18° Pour un sérum possédant un pouvoir agglutinant mixte, l'immunsérum observé présente, en ce qui concerne chacun des deux microbes, une élévation du pouvoir agglutinant dans l'un des sens qui viennent d'être indiqués.

Cette exagération se produisant tantôt à un pôle tantôt à un autre, exclut l'hypothèse d'une action électrolytique ou osmotique.

19° Malgré le passage prolongé du courant continu, le pouvoir agglutinant spécifique particulier a été conservé.

20° Les faits que nous rapportons ne semblent pas

pouvoir actuellement s'interpréter en faisant appel, pour expliquer le mécanisme de l'agglutination aux actions réciproques de particules de signes électriques différents.

Bibliographie générale

- ABBOTT (1908). — Galvanotropism of bacteria Science, XXVII, 910.
- ALVERDES. — Über galvanotaxis und Flimmerbewegung. *Biologische Zentralblatt*, p. 50. V. 43, 1923.
- ARKWRIGHT (1914). — On the presence in an emulsion of *Bacillus typhosus*, of two different substances which are agglutinable by acide, and their relation to serum agglutination. *Z. Immunitätsforsch. Orig. t. XXII*, p. 396.
- ARLOING, CLUZET et KOFMAN. — Variation de l'alcalinité du sang chez le cobaye tuberculeux. *C. R. Soc. Biologie. T. XCI*, 1924, p. 1411.
- BANCROFT (1904). — Note on the galvanotropic reaction of the Medusa. *Journ. exper. Zool. Vol. I* (1904), p. 289.
- The mechanism of galvanotropic orientation in *Volvox*. *Journ. of exper. Zool. Vol. IV* (1907), p. 157.
- BECHOLD (1904). — Die Ausflockung von suspensionen bzw. kolloiden und Bakterienagglutination. *Z. phys. Chem.* p. 38-385 (1904).
- BENIASCH (1911-12). — Die Säureagglutination der Bakterien. *Z. Immunitätsforsch*, t. XII, p. 268.
- BIRUKOFF (1899). — Untersuchungen über Galvanotaxis. *Arch. f. Ges. Physiol.* Bd. 77, p. 555-585.
- Zur Theroie der Galvanotaxis. *Pflügers Arch.* Bd. III, p. 95.
- BLASIUS (1893). — Elektrotropismus und verwandte Erscheinungen. *Pflügers Arch.* Bd. 53, p. 493.

- BRESLAU (1923). — Methodologisches zur Untersuchung der galvanotaxis bei Infusoren. *Biologisches Zblatt*, p. 494, V. 43.
- BUDDENBROCK (1915). — Die Tropismentheorie. V. J. Loeb. *Biol. Zblatt*, V. 35.
- BURTON (1921). — The physikal properties of colloidal solutions, London and New-York.
- CARLIGREN (1905). — Der Galvanotropisme und die innere Kataphorèse. *Ztschr. f. allg. Physiol.* Bd. 5, p. 123-130.
- CERNOVODEANU P. et HENRI V. (1906). — Détermination du signe électrique de quelques microbes pathogènes. *C.R. Société Biologie*, p. 61, 200.
- CLARK (1920-22). — The determination of hydrogen ions. Baltimore.
- CLUZET, KOFMAN et MILHAUD. — Des modifications du pH au cours du choc anaphylactique expérimental. 1924, *C. R. S. Biologie*, p. 669.
- CLUZET, ROCHAIX et KOFMAN. — Variations du pouvoir agglutinant des sérums, sous l'influence du courant continu. *C. R. Acad. Sciences*, 1924, t. 179, p. 1631.
- CLUZET, ROCHAIX et KOFMAN. — Variations du pouvoir agglutinant d'un immunsérum mixte sous l'influence du courant continu. *C. R., Acad. Sciences*, 1925, t. 180, p. 1611.
- COMMANDON (1909). — De l'usage en clinique de l'ultra-microscope. *Thèse de Paris*, 1909 (Médecine), p. 124.
- COMMANDON (1913). — Transport électrique des microbes. *Archives d'Electricité médicale*, 1913, p. 49.
- DONNAN (1911). — *Z. Elektrochemie*, XVII, 572.
- EGGERTH and BELLOWES (1921-22). — The flocculation of bacteria by proteins. *J. Gen. Physiol.*, t. IV, p. 669.
- ELLIS (1912). — Die Eigenschaften von Olemulsionen. *Z. phys. Chemie*, t. 80, p. 597.
- FALK (1923). — The role of certain ions in bacterial physiology. *Abstr. Bact.*, t. VII, p. 33-87-133.
- FREUNDLICH (1921). — The effective potential difference of electro-osmosis and allied phenomena, London, p. 146.
- GIRARD et AUDIBERT (1918). — Les charges électriques des microbes et leur tension superficielle. *C. R. Acad. des Sciences*, t. CLXVII, p. 351.
- HELMHOLTZ (1879). — *Ann. de Phys.*, p. 337.

- HERMANN (1885). — Einwirkung galvanischer Ströme auf Organismen. *Plügers Arch.* Bd. 37, p. 457.
- HABER and KLEMENSIEWICZ (1909). — Über electrische Phasengrenz Kräfte. *Z. Phys. Ch.*, t. LXVII, p. 385.
- HARDY (1899). — On the coagulation of proteid by electricity. *J. Physiol.*, t. XXIV, p. 288.
- HÖBER (1914). — Beitrag zur physikalischen Chemie der Vitalfärbung. *Biosch. Zeitsch.*, t. LXVII, p. 420.
- KUNITZ (1924). — A. Cell for the measurement of cataphoresis of ultra microscopic particles. *J. of gen Physiol.*, t. VI (1924), p. 413.
- LATTEY (1921). — The dielectric constanc of electrolytic solution. *Phil. Mag. Série 6*, p. 41-829.
- LOEB (1922). — Electrical charge of colloidal particles and anomalous osmosis. *J. of Gen. Phys.*, t. IV, p. 464.
- LOEB (1922). — Proteins and the thony of colloidal behavior, New-York.
- The origine of the electrical charges of colloidal particles and of Living Tissus. *J. Phys.*, t. IV, p. 351.
- LUMIÈRE Auguste (1921). — Rôle des colloïdes chez les êtres vivants. Masson et Cie.
- MELLON (1922). — Spontaneous agglutination of bacterice in relation to variability and to the action of aqulibrated solution of electrolytes. *J. Md. Recherches*, p. 43-345.
- MENDELSSOHN. — Dictionnaire physiologie Richet, article Galvanotaxis.
- NEISSER and FRIEDMANN (1904). — Studien uber Ausflockungsercheinungen. Beziéhunben zur Bakterien agglutination. *Munch. Med. Woch.*, 51, p. 465-827.
- NORTHROP (1921-22). — The stability of bactèrial suspension I. A. convenient cell for microscopic cataphorésis experiments. *J. Gen. Physiol.*, t. IV, p. 9.
- NORTHROP and CULLEN (1921-22). — An apparatur for macroscopic cataphorésis experiments. *J. Gen. Physiol.*, t. IV, p. 635.
- NORTHROP and DE KRUIF (1921-22). — The stability of bactériel suspensions. *J. Gen. Physiol.*, t. IV, p. 639.

- POWIS (1914-15). — Die Einflouss von Elektrolyte and Potentiel différenz an die Ol Wassergrenzfläsche. *Z. Physiol. Chemie*, t. LXXXIX, p. 91.
- PUTTER (1921). — Untersuchungen uber Bakterienkataphorese. *Z. Immunitätsforsch*, t. XXXII, p. 538.
- RUSS (1909). — The electrical reactions of certain bacteria. *Proc. Roy. Soc. London*, t. LXXXI, p. 314.
- SALUS (1917). — Die bakterienadsorption durch Bolus. *Biosch. Zeits.*, t. LXXXIV, p. 378.
- SCHEARER (1922). — Studies an the action of electrolyte an bacteria. *J. Hyg.*, t. XXI, p. 77.
- SMOLUCHOWSKI. — D'après Grätz. *Handbuch der Elektrizität*. Bd. 2, 1920.
- TEAGUE and BUXTON (1906-07). — Die Agglutination in physikalisch. Hinsicht. *Z. Phys. Chem.*, t. LVII, p. 76.
- VERWORN (1896). — Die polare Erregung der lebendigen Substanz durch den konstanten Strom. *Arch. f. d. ges. Physiol.* Bd. 65, p. 47-62.
- WINSLOW and FALK (1923). — Studies on Salt action. The influence of calcium and sodium salts at various hydrogen ion concentration upon the viability of *Bacterium Coli*. *J. Bact.*, t. VIII, p. 215.
- WINSLOW and FALK (1923). — Studies on salt action. The additive and antagonistic effects of sodium and calcium chlorides upon the viability of *bactérin coli*. *J. Bact.*, t. VII, p. 237.
- WINSLOW, FALK and CAULFIELD (1924). — Electrophoresis of bacteria. *J. O. Gen. Physiol.*, t. VI.
- WINSLOW and SCHAUGHNESSY (1924). — The Alkaline Isopotential Paint of the bacterial Celle. *J. of Gen. Physiol.*, VI, p. 697.
- WINTSERSTEIN (1913). — Handbuch der Vergleichende Physiol., p. 482-484.
- ZENT-GYÖGYI (1925). — Kataphoreseversuche an Kleinlebewesen. *Bioch. Zsch.*, V, 113, p. 29.

Bibliographie spéciale

I. — Rayons X, Radium et Microbes.

- ASCHNIKAS et GASPARI. — Ueber den Einfluss dissozierender Strahlen auf organisierte Substanzen, insbesondere über schädigende Wirkung der Becquerelstrahlen. *Pflüg. Arch.*, 1901.
- BECK et SCHULTZ. — Ueber die Einwirkung sogenannten monochromatischen Lichtes auf die Bakterienentwicklung. *Zeit. f. Hygiene u. Infektionsk.*, 1896.
- BASSELT et SMITH. — The effects of X rays and sunlight on some pathogenic microorganisms. *Arch. of the Röntg. R.*, 1901.
- BERTON. — Action des rayons X sur le B. diphtérique. *La Semaine médicale*, 1896.
- BEAUREGARD et GUICHARD. — Action des rayons X sur certains caractères biologiques des microbes. *C. R. Soc. Biol.*, 1897.
- BLAISE et SAMBUC. — Action des rayons X sur le B. pyocyanique et la bactériidie charbonneuse. *C. R. Soc. Biol.*, 1897.
- COURMONT et NOGIER. — Action des rayons γ du radium sur le bacille d'Eberth. *Soc. Biol.*, 17 mai 1920.
- EDSALL. — The attitude of the clinician in regard to exposing patients to the X rays. *The Journal of the american medical Association*, vol. XLVII.

- FRANTZIUS. — Einige Bemerkungen auf die Wirkung der Röntgenstrahlen. *Centralblatt f. Bakteriolog.*, t. V; 21.
- FOERSTERLING. — Wachstumstörungen nach Röntgenbestrahlung. *Verhandlung. des V. Röntgenkongress*, 1909.
- HOLZKNECHT et SPIELER. — Ueber die biologischen Veränderungen der von Röntgenstrahlen getroffenen Bakterien. *Wiener medizinische Presse*, 1901.
- JALSTRAM. — Ueber die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf Bakterien. *Zeitsch. Elektroth.*, 1905.
- KRAUSE et ZIEGLER. — Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf tierischen Gewebe. *Fortsch. a. d. Geb. d. Röntgenstrahlen*. V. X.
- KRAUSE et JALSTRAM. — Ueber die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf Bakterien. *Zeitsch. f. Elektroth.*, 1906.
- KRUKENBERG. — Gehirnschädigung durch Röntgenstrahlen. *Verhandlung. des V. Röntgenkongress*, 1909.
- LORTET et GENOUD. — Tuberculose expérimentale atténuée par les radiations Röntgen. *C. R. Acad. des Sciences*, 1896.
- MINK. — Zur Frage über Einwirkung der Röntgenstrahlen auf Bakterien. *Münchener med. Woch.*, 1896.
- MUHSAM. — Versuche mit Röntgenstrahlen bei experimenteller Tuberculose. *Deutsche mediz. Woch.*, 1898.
- PERTHES. — Einfluss der Röntgen und Radiumstrahlen auf der Zellteilung. *Deutsche med. Woch.*, 1904.
- QUADRONE. — Klinische und experimentelle Untersuchungen über die Wirkung der Röntgenstrahlen. *Centralblatt f. inn. Mediz.*, 1905.
- RIEDER. — Wirkung Röntgenstrahlen auf Bakterien. *Münch. mediz. Woch.*, 1898. — Bakterientötent. Wirkung R. X. *Münch. mediz. Woch.*, 1902.
- RUSS. — Einfluss R. X. auf Mikroorganism. *Zeitsch. f. Hyg.*, 1906.
- SCHLACHTA. — Schemische Imitation der biol. Strahlenwirkung. *Münch. med. Woch.*, 1905.
- SORNANI. — I raggi Röntgen esercitano qualche influenza sui batteri. *Giorn. d. R. Soc. Ital. Igiene*, 1896.

SABRAZÈS et RIVIÈRE. — Recherches sur l'action biologique des rayons X. *C. R. Acad. des Sciences*, 1897.

SEITZ. — Ueber eine Art sehr weicher R. X. *Phys. Zeitsch.*, 1905.

ZEIT. — Effect of direct X rays on bakteria. *The Journ. of the american Assoc.*, 1901.

WOLFENDEN et FORBES-ROSS. — The effects produced in cultures of micro-organisms and of tubercle bacilli by expure to the influence of an X ray tube. *Arch. of the R. Ray.*, 1900.

ZUNZ et LA BARRE. — Sur les modifications du pH du plasma au cours du choc anaphylactique. *Soc. Biol. Belge*, 1923, p. 290.

II. — *Rayons secondaires et Microbes.* ..

ALBERS SCHÖNBERG. — Sekundentherapie. *Forts. a. d. G. Röntgenstrahlen V. XIV, H. 2*, p. 152.

CLUZET, ROCHAIX et KOFMAN. — Action bactéricide du radium sur le B. pyocyanique. *C. R. Soc. Biol.*, 10 juill., 15 novembre 1920. — Action bactéricide du radium sur le B. d'Eberth. *C. R. Soc. Biologie*, 20 décembre 1920. — Action bactéricide du rayonnement que donnent les tubes radifères employés en radiumthérapie. *C. R. Acad. des Sciences*, 3 janvier 1921. — Action sur les microbes du rayonnement secondaire des rayons X. *C. R. Acad. Sciences*, 2 octobre 1922, p. 546.

CLUZET et KOFMAN. — Etude ultra-microscopique de l'action des rayons X sur les colloïdes métalliques. *C. R. Soc. Biol.*, 19 décembre 1921. — Sur la production des rayons secondaires et sur leur utilisation. *Journ. de Radiologie et d'Electrologie*, 1923, p. 337, 1921.

GHILARDUCCI. — Azione del radium sulle culture di bacillo tubercolare. *B. d. Acc. med. Roma*, XXXIX, fasc. II, 1913. — Azioni dei raggi secondari del bismuto sulla mucosa gastrica. *B. d. R. Acc. med. di Roma*, XL, fasc. 1, 1914. — *Idem.* *C. R. Congrès intern. d'Electro-radiologie*, Lyon, 1914. — Azione dei raggi secondari sui bacilli del carbonchio. *B. d. R. Acc. Med. Roma*, XLI, fasc. 1-2, 1915. — Intorno ad alcune vedute moderne sull'azione bio-fisica dei raggi X. *La Radiologia Medica*,

- luglio-agosto, 1918. — Azione antibatterica dei raggi secondari. *Policlínico*, 1919. — Azione biologica e curativa delle radiazioni secondari. *B. R. Acc. Med. di Roma*, 28 décembre 1919. — Nuovi esperimenti sull'azioni antibatterica dei raggi secondari. *B. R. Acc. Med. di Roma*. Seduta del 27 feb. 1921. — Azioni biologica e curativa delle radiazioni secondari ottenute per mezzo della ionoforesi argéntica. *La Radiologia Medica*, p. 575, 1921.
- GUARINI, Methodo GHILARDUCCI per la utilizzazione dei raggi secondari in Röntgentherapia. *Riforma Medica*, A. XXXVIII, n° 16, 1922.
- MILANI. — Azione del radium sulle culture di bacillo tubercolare, specialmente in rapporto alla quantità dei raggi. *B. d. R. Acc. Med. Roma*, XL, fasc. IX, 1914. — Azione antibatterica dei raggi secondari dei metalli colloidali. *B. R. Acc. Med. Roma*, 28 décembre 1919.
- TRILLAT. — Action des Rayons X sur les microbes. 1926, *Presse Médicale*, p. 1577.
- VIANA. — Studio della proprietà terapeutiche delle radiazioni Röntgeniano. *Ptnerolo*, 1916.
-

SECONDE THÈSE

Propositions données par la Faculté

L'Acidité Ionique du Sol

Lu et accepté :

Les Membres du Jury,

CARDOT.

BEAUVÉRIE.

ROMAN.

CLUZET.

Vu et approuvé :

Le Doyen

de la Faculté des Sciences,

CH. DÉPÉRET.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 7 Janvier 1927.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

J. GHEUSI.

ERRATA

<i>Page</i>	<i>Ligne</i>	<i>Lire</i>	<i>Au lieu de</i>
33	24	où	oô
42	5	interprétée	interprété
42	49	ou	au
44	8	$\frac{x}{y} = \frac{y + z}{x}$	$\frac{x}{y} = y (y + z)$
87	12	Bactériologique	Bastériologique

TABLE DES MATIERES

Introduction.....	9
PREMIÈRE PARTIE. — Généralités. Galvanotropisme actif ou passif	11
Chapitre Premier. — Transport électrique des Bactéries.....	17
I. Technique.....	18
II. Conditions Générales d'une observation correcte de Cataphorèse.....	22
III. Résultats.....	25
IV. Origine de la Charge Electrique.....	27
V. Evaluation de la Charge Electrique.....	31
VI. Variation de la Charge Electrique	34
VII. Influence de certains electrolytes sur le Signe Electrique	40
VIII. Interprétation. Potentiel de Cataphorèse et Equilibre de Donnan	42
DEUXIÈME PARTIE. — Recherches sur la destruc- tion des microbes par le rayonnement secondaire associé au Galvanotropisme..	49

Chapitre II.— Recherches sur les conditions générales et favorables pour obtenir l'action microbicide avec les rayons secondaires émis par le Radium.....	51
I. Historique.....	51
II. Recherches personnelles.....	52
Chapitre III.— Recherches de l'action microbicide des rayons secondaires produits par les rayons X.....	59
I. Recherches antérieures	60
II. Recherches personnelles	64
Chapitre IV.— Action simultanée du galvanotropisme et des rayons X pour produire l'effet bactéricide.....	71
TROISIÈME PARTIE.— Propriétés physico-chimiques des immunsérums en relation avec le signe électrique des microbes.....	75
Chapitre V.— Variations de la concentration des Ions H dans les immunsérums.....	79
I. Modifications de PH du sang au cours du choc anaphylactique.....	80
II. Modifications de PH du sang sous l'action des rayons X	82
III. Variations de PH du sérum au cours de l'immunisation	86
Chapitre VI.— Variation du pouvoir agglutinant des Immunsérums en relation avec le signe électrique des microbes	91
Conclusions	99
Bibliographie générale.....	107
Bibliographie spéciale	111



IMP. BOSC FRÈRES & RIOU

◦ 42, QUAI GAILLETON ◦

◦ ◦ ◦ ◦ ◦ LYON ◦ ◦ ◦ ◦ ◦



